

ZUR FRÜHERKENNUNG DER DIABETISCHEN
NEPHROPATHIE: BETA₂-MIKROGLOBULIN IM SERUM

THOMAS SCHMEIDL

1986

AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof. Dr. N. Zöllner

ZUR FRÜHERKENNUNG DER
DIABETISCHEN NEPHROPATHIE:
BETA₂-MIKROGLOBULIN IM SERUM

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Thomas Schmeidl
aus Bernau

München 1986

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. F.-D. Goebel

Mitberichterstatter: Prof. Dr. N. Zöllner

Dekan: Prof. Dr. W. Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 13.5.1986



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Ärzte heilen Krankheiten,
Die sie nicht kennen,
In Körpern,
Die sie nicht kennen,
Mit Drogen,
Die sie nicht kennen.

Voltaire (1694 - 1778)

INHALTSVERZEICHNIS

I) EINLEITUNG

1) Geschichtliches	1
2) Die diabetische Nephropathie	2
3) β_2 -Mikroglobulin	4

II) MATERIAL UND METHODEN

1) Patienten	6
2) β_2 -Mikroglobulin-Bestimmung	7
3) Proteinurie	11
4) Kreatinin / Kreatininclearance	15
5) Retinopathie	16
6) HbA ₁	18
7) Statistische Methoden	19

III) ERGEBNISSE

1) Kontrollpersonen	21
2) Parameter der Nierenfunktion	24
3) Nierenfunktion und Retinopathie	30
4) HbA ₁	34
5) IDD / NIDD	38
6) Hypertonie	42
7) Verlaufskontrolle	44

IV) DISKUSSION

1) β_2 -Mikroglobulin als Parameter der Nierenfunktion	48
2) Manifestation der diabetischen Nephropathie	51
3) Verlauf der Nephropathie	55
4) Die vorgestellten Methoden in der Routinediagnostik	57
5) Unterschiede im Verlauf von Typ I- und Typ II-Diabetes	60

V) ZUSAMMENFASSUNG

VI) LITERATURVERZEICHNIS

I) EINLEITUNG

1) GESCHICHTLICHES

Der Diabetes mellitus als medizinischer Begriff taucht bereits im dritten vorchristlichen Jahrhundert bei dem griechischen Arzt Demetrius von Apameia auf. Er belegte diejenigen Wassersuchtformen, die ohne Ödeme einhergehen, und bei denen das Wasser ohne Verzug gleichsam wie durch eine Röhre den Körper durchläuft, mit dem Namen Diabetes. Aus dieser Epoche stammen auch Niederschriften von Ärzten aus dem indischen Kulturkreis, welche den Harn des Diabetikers als "Zuckerrohrharn" oder als "Honigharn" bezeichneten (51). Damit waren die wichtigen klinischen Zeichen des Diabetes mellitus, nämlich Polydipsie, Polyurie und Glucosurie schon vor mehr als zwei Jahrtausenden beschrieben.

Erste fundierte Erkenntnisse über die Ursache dieser Krankheit gewann man jedoch erst 1889, als O. Minkovski und J. v. Mering an pankreatektomierten Hunden die typischen Symptome des Diabetes demonstrieren konnten. Bald darauf postulierte Laguesse die endokrine Aktivität des Pankreas, und erste Versuche zur Therapie des Diabetes mit Pankreasextrakten begannen (51). Als dann im Jahre 1921 Collip, Banting und Best zum ersten Male Insulin erfolgreich an einem Diabetiker einsetzten, schien das Problem der Behandlung des Diabetes mellitus gelöst.

In den folgenden Jahrzehnten unterlag das Krankheitsbild jedoch einem eindrucksvollen Wandel: war vor der Insulinära das Coma diabeticum mit 70% die häufigste Todesursache, so ist die Wahrscheinlichkeit, daß heute ein Diabetiker im Rahmen einer Blutzuckerentgleisung stirbt, relativ gering. In den Vordergrund rückten dagegen die durch Mikro- und Makro-

angiopathie im Verlauf des Diabetes entstehenden Folgeerkrankungen. So beschrieben Kimmelstiel und Wilson 1936 erstmals das histologische Bild der nodulären Glomerulosklerose (29), welche für die diabetische Nephropathie nahezu pathognomonisch ist. Die klassischen Veränderungen am Augenhintergrund im Rahmen der Retinopathia diabetica hatte zwar Jaeger bereits 1856 in Wien dokumentiert (27), man war damals jedoch noch weit davon entfernt, die Ursache für diese Veränderungen zu erkennen. Erst im Laufe der Zeit konnte bewiesen werden, daß alle Folgeerkrankungen ohne das Bestehen weiterer Ursachen allein im Rahmen eines Diabetes mellitus auftreten können. Der Pathogenese der diabetischen Mikroangiopathie, welche neben Retina und Niere auch Nerven, Haut und Muskeln befällt, ist heute nach wie vor nicht sicher geklärt. Es wurden hierfür metabolische, immunologische und genetische Ursachen diskutiert (25), vieles spricht jedoch dafür, daß die veränderte Stoffwechsellage zumindest die Hauptursache der Entstehung der Mikroangiopathie ist.

2) DIE DIABETISCHE NEPHROPATHIE

Die Diabetesdauer bis zur Erstmanifestation und auch die Progredienz der diabetischen Mikroangiopathie können von Fall zu Fall aus nicht weiter bekannten Ursachen stark variieren. So gibt es sowohl Diabetiker, die bereits nach wenigen Jahren Diabetesdauer alle Formen der Mikroangiopathie entwickeln, als auch solche, die selbst nach langjähriger Krankheit hiervon weitgehend verschont bleiben (57). Von allen diabetischen Folgeerkrankungen ist nun insbesondere der diabetischen Nephropathie eine ungünstige Prognose zu stellen. Man kann sagen, daß bei langjährigem, insulinpflichtigen Diabetes insbesondere bei früher Erstmanifestation bis zu 50% der Zuckerkranken letztlich an einer Nephropathie bzw. deren Folgen sterben (16, 25, 31). Die Häufigkeit von renalen Todesursachen ist bei Diabetikern aller Altersstufen 2 - 3 mal so hoch

wie bei Stoffwechselgesunden (25). Eine kausale Therapie der diabetischen Nephropathie ist nicht möglich; es ist jedoch allgemein anerkannt, daß eine optimale Einstellung des Stoffwechsels (34, 39, 62) und auch einer eventuellen Hypertonie (41) die Entstehung bzw. das Fortschreiten der Nephropathie verzögern kann. Dies alles macht deutlich, wie wichtig die Früherkennung der diabetischen Nephropathie im Rahmen der Dauerbetreuung eines Zuckerkranken ist. Denn eine genaue Überwachung der Nierenfunktion stellt auch eine gute Therapiekontrolle dar.

Aus der im Rahmen der diabetischen Nephropathie meist zuerst auftretenden Glomerulosklerose mit Verdickung der Basalmembranen resultiert eine vermehrte Durchlässigkeit der Kapillaren für Eiweißstoffe einerseits und andererseits eine Einengung des Kapillarlumens, welche zur Proteinurie bzw. zur Abnahme der glomerulären Filtrationsrate (GFR) führen. Die Kontrolle der Nierenfunktion erfolgt in der klinischen Routinediagnostik daher im Wesentlichen durch Bestimmung des Serumkreatinins als Maß für die GFR sowie durch den (semiquantitativen) Nachweis von Albumin im Urin, z.B. durch Albustix^R. Hierdurch kann eine sich entwickelnde Nephropathie jedoch erst relativ spät nachgewiesen werden. Denn bekanntlich steigt das Serumkreatinin erst bei einer Abnahme der GFR um mehr als 50% signifikant an; die gängigen Nachweismethoden für die Proteinurie liegen mit einer Nachweisgrenze von um 100 mg/l ebenfalls bereits weit im pathologischen Bereich.

Die Frühdiagnose der diabetischen Nephropathie erfordert daher verfeinerte Nachweismethoden für Eiweißausscheidung bzw. Einschränkung der GFR oder eine Nierenbiopsie. Zu letzterem wird man sich wegen des damit verbundenen Aufwandes und vor allem wegen des Risikos bei nur geringem Nutzen für den Patienten jedoch nur in Ausnahmefällen entschließen können. Ebenso sind Verfahren zur präzisen Erfassung der GFR, wie z.B. die Inulin-clearancebestimmung oder die katheterlose Filtratbestimmung mit ⁵¹Cr-EDTA im Single-Shot-Verfahren (11)

für Routinekontrollen und größere Verlaufsstudien zu aufwendig. Allenfalls die Bestimmung der endogenen Kreatininclearance käme hierfür in Frage. Sie ist jedoch auch mit erheblichem Aufwand verbunden, praktisch nur unter stationären Bedingungen durchführbar und in ihrer Aussagekraft nicht immer zuverlässig (23, 53).

Die Erfassung einer Mikroalbuminurie mit Hilfe geeigneter Methoden ist an sich ein brauchbares Instrument zur Früherkennung der diabetischen Nephropathie, insbesondere auch, da die (intermittierende) Mikroalbuminurie als erstes Zeichen einer beginnenden Nephropathie angesehen wird (37, 38). Eingeschränkt wird die Bedeutung der Mikroalbuminurie jedoch wiederum durch die Tatsache, daß sie von temporären Faktoren wie Hypertonie (41), der aktuellen (!) Diabetes-einstellung (60) und möglicherweise sogar der Plasmaviskosität (56) abhängt. Auch bedingen z.B. eine venöse Stauung oder ein momentaner Infekt eine Steigerung der Proteinausscheidung. Darüberhinaus kann sich die intermittierende Proteinurie bei Stichproben des Spontanurins naturgemäß lange dem Nachweis entziehen.

3) BETA₂-MIKROGLOBULIN

Beta₂-Mikroglobulin (β_2 -MG) wurde 1968 erstmals von Berggard und Bearn als niedermolekulares Protein beschrieben, das sich bei verschiedenen, vor allem tubulären Nierenerkrankungen vermehrt im Urin nachweisen läßt (6). β_2 -MG besteht aus 100 Aminosäuren in bekannter Sequenz; zwischen der 25. und der 81. Aminosäure findet sich eine Disulfidbrücke (44, 45). Damit ist β_2 -MG mit der leichten (konstanten) Kette der HLA-Antigene, welche sich auf der Oberfläche aller kernhaltigen Körperzellen befinden, identisch (45). Im Umsatz der Zellmembranen liegt die Hauptquelle des freien β_2 -MG im Serum (28). Wegen seines niedrigen Molekulargewichts von 11800 D (Molekulardurchmesser

ca. 1,6 nm) wird β_2 -MG glomerulär filtrierte; anschließend wird es im proximalen Tubulus durch Pinozytose absorbiert und metabolisiert (28, 49). Eine Ausscheidung oder Abbau durch andere Organe findet nicht statt. Die mittlere Halbwertszeit von β_2 -MG im Serum beträgt beim Nierengesunden 2,1 h (28).

Aufgrund dieser Eigenschaften korreliert der β_2 -MG-Spiegel im Serum eng mit der glomerulären Filtrationsrate. Abgesehen von Erkrankungen, welche mit einem erhöhten Zellumsatz und damit vermehrter β_2 -MG-Bildung einhergehen, lassen erhöhte Serumspiegel des Spurenproteins auf eine Verringerung des Glomerulumfiltrats schließen. Dabei konnten verschiedene Autoren zeigen, daß β_2 -MG im Serum bereits geringfügige Schwankungen der GFR empfindlicher reflektiert als das Serumkreatinin (4, 9, 61). Ist β_2 -MG im Serum über das 2 - 3 fache der Norm erhöht, so wird die tubuläre Reabsorptionskapazität überschritten. Es kommt zum "Überlaufen" der Tubuli, d.h. zu einer vermehrten Ausscheidung des Proteins im Urin (59). Bei normaler oder nur geringgradig eingeschränkter GFR zeigt hingegen eine erhöhte β_2 -MG-Ausscheidung im Urin einen tubulären Schaden an. So können beispielsweise eine klinisch noch stumme, beginnende Quecksilber- oder Cadmiumintoxikation erfaßt werden (49).

In der vorliegenden Arbeit wurde nun versucht, die Wertigkeit der β_2 -MG-Bestimmung im Serum und Urin zur Erfassung einer diabetischen Nephropathie zu überprüfen. Hierzu wurden bei 120 Patienten der Diabetesambulanz der Medizinischen Poliklinik die β_2 -MG-Spiegel im Serum und Urin bestimmt und zum Teil über bis zu zwei Jahre hindurch verfolgt. Daneben wurde der Grad der Proteinurie dieser Diabetiker mit einer Methode, welche den Nachweis von Eiweiß ab Konzentrationen von 10 mg/l ermöglicht, erfaßt. Diese Ergebnisse verglichen wir mit dem Serumkreatinin, dem Grad der Retinopathie und anderen krankheitsbezogenen Parametern. Bei 70 Kontrollpersonen wurde außerdem das β_2 -MG im Serum zur Ermittlung des Referenzbereichs und zum Vergleich mit der endogenen Kreatininclearance bestimmt.

II) MATERIAL UND METHODEN

1) PATIENTEN

Sämtliche 120 im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Diabetiker befanden bzw. befinden sich in der regelmäßigen Betreuung durch die Diabetesambulanz der Medizinischen Poliklinik. Zusätzlich zu den routinemäßig durchgeführten klinischen Untersuchungen wurden das Ausmaß der Proteinurie im 24 h-Urin, das Serum- β_2 -MG und der HbA₁-Anteil im Kapillarblut bestimmt. Darüberhinaus untersuchten wir anfänglich bei insgesamt 45 der Patienten die β_2 -MG-Ausscheidung im Urin. Soweit dies organisatorisch möglich war, wurden bei allen Patienten regelmäßige Kontrollen der diabetischen Augenhintergrundsveränderungen in der Augenklinik der Universität durchgeführt. Wurden bei einem Patienten anlässlich einer Wiedervorstellung innerhalb von bis zu 12 Wochen zusätzliche Bestimmungen gemacht, so wurden die Werte jeweils zu einem Ausgangswert gemittelt (arithmetisches Mittel bei Serumwerten, geometrisches Mittel bei Urinausscheidungen). Bei 55 Patienten konnten diese Bestimmungen nach einem Zeitraum von 12 - 24 Monaten zum Ausgangswert als Verlaufskontrolle wiederholt werden. Auch hier wurden ggf. Doppelwerte gemittelt. Da aus technischen und organisatorischen Gründen bei manchen Patienten der eine oder andere Parameter nicht zu ermitteln war, ergaben sich bei der statistischen Auswertung der Ergebnisse teilweise "Gesamtkollektive" von etwas weniger als 120 Patienten.

52 der untersuchten Diabetiker (43%) waren insulinabhängig (IDD), die restlichen 68 (57%) nicht insulinabhängig (NIDD). Das Durchschnittsalter der Patienten betrug im Gesamtkollektiv 59 Jahre, der jüngste Patient war 16, der älteste 84 Jahre alt. Durch den Anteil an jugendlichen Diabetikern war das

Durchschnittsalter der IDD-Patienten mit 53 Jahren deutlich niedriger als das der NIDD-Gruppe mit 64 Jahren. Die mittlere Diabetesdauer betrug im Gesamtkollektiv 13 Jahre (Minimum: 1 Jahr, Maximum: 35 Jahre), bei den NIDD-Patienten 11 Jahre und bei den IDD-Patienten 16 Jahre. Die klinische Untersuchung zeigte bei 44% der Patienten Zeichen einer (diabetischen) Neuropathie mit Sensibilitätsstörungen, Reflexausfällen und / oder Parästhesien. Bei 37% der Diabetiker bestand eine Makroangiopathie. Einen Hypertonus von unbehandelt mehr als 160 mm Hg systolisch oder 95 mm Hg diastolisch hatten 52% des Gesamtkollektivs.

50 offensichtlich gesunde Probanden wurden als Kontrollgruppe zur Ermittlung des Normalbereichs für β_2 -MG im Serum herangezogen. Ihnen wurde unter den gleichen Bedingungen wie den Diabetikern Blut abgenommen und der Serum- β_2 -MG-Spiegel bestimmt. Das mittlere Alter dieser Probanden lag bei 44 Jahren (Minimum: 20 Jahre, Maximum: 63 Jahre), die Geschlechterverteilung war nahezu 1:1. Des weiteren wurden bei 20 nierengesunden und niereninsuffizienten Patienten der Medizinischen Poliklinik unter den oben genannten Bedingungen β_2 -MG und Kreatinin im Serum bestimmt sowie eine 24 h-Kreatininclearance-Bestimmung durchgeführt.

2) β_2 -MIKROGLOBULIN-BESTIMMUNG

Für die quantitative Bestimmung von Proteinen wie β_2 -MG in den vorliegenden Konzentrationen mit der notwendigen Spezifität eignen sich unter anderem immunologische Methoden. Bei unseren Untersuchungen wurde hierfür ausschließlich ein im Handel erhältlicher Radioimmunoassay-Kit der Firma Pharmacia, Freiburg verwendet (46). Er ermöglicht die Bestimmung von β_2 -MG in Seren und Urinen ab einer Konzentration von 15 $\mu\text{g/l}$. Die vom Hersteller angegebene Präzision liegt bei einem Variationskoeffizienten von 6,8% im Intraassayvergleich bzw. 8,2%

im Interassayvergleich. Dies deckt sich auch mit unseren Ergebnissen (siehe unten).

Ein Radioimmunoassay (RIA) beruht im Prinzip auf der kompetitiven Bindung der zu betimmenden Substanz einerseits und einem (immunologisch hiermit identischen) radioaktiv markierten Tracer andererseits mit spezifischen Antikörpern. Zur Markierung der Tracer wird, wie auch im hier verwendeten RIA, häufig ^{125}J verwendet, ein γ -Strahler mit ca. 60 d Halbwertszeit. Die spezifischen Antikörper werden z.B. durch Immunisierung von Kaninchen erzeugt. Nach Inkubation einer definierten Menge der Probe (mit unbekannter Substanzmenge), des Tracers und der Antikörper miteinander wird der antikörpergebundene Anteil des Tracers vom freien Anteil durch ein geeignetes Verfahren (z.B. Fällung oder Zentrifugation) abgetrennt. Die Radioaktivität des gebundenen Anteils wird sodann bestimmt. Sie ist ein Maß für die Konzentration der eingesetzten Substanz, welche dann im Vergleich mit einer Standardkurve aus bekannten Proben ermittelt werden kann. In der Regel werden Doppel- oder Dreifachbestimmungen durchgeführt. Das folgende Arbeitsschema soll das eben Gesagte anhand des verwendeten β_2 -MG-RIAs noch einmal erläutern.

Verwendete Materialien und Geräte:

β_2 -MG-RIA Kit, bestehend aus:

Tracer (^{125}J -markiertes β_2 -MG, lyophilisiert)

Antikörper (Sephadex-gekoppelte Kaninchen-Antikörper,
lyophilisiert)

Standard (Standard 96 $\mu\text{g/l}$ β_2 -MG, lyophilisiert)

Tween Lösung (zur Herstellung des Puffers)

Puffer (Trockensubstanz)

Aqua bidest.

NaCl-Lösung 0,9%

Pipetten 50 μl - 10 ml

Polystyrolröhrchen 11 x 75 mm

Reagenzglasschüttler, Zentrifuge (3000 g)

γ -Counter

Arbeitsschritte:

1. Herstellen des Puffers, rekonstituieren von Antikörpersuspension, Tracer und Standard 96 $\mu\text{g/l}$
2. Erstellen einer geometrischen Verdünnungsreihe für Standards (3 $\mu\text{g/l}$ - 96 $\mu\text{g/l}$) sowie Standard 0 $\mu\text{g/l}$ (= Puffer)
3. Verdünnen der Proben mit Puffer nach Bedarf (in der Regel 1 + 200 bis 1 + 1000 für Seren bzw. 1 + 5 bis 1 + 100 für Urine)
4. Pipettieren von je 100 μl der Standards S0 - S6 (0 $\mu\text{g/l}$ - 96 $\mu\text{g/l}$) bzw. der verdünnten Proben in die Reagenzröhrchen
5. Zugabe von je 100 μl Tracer in alle Röhrchen
6. Zugabe von je 100 μl Antikörpersuspension in alle Röhrchen
7. Inkubation: 3 h bei 20°C unter stetigem Schütteln
8. Trennen: Zugabe von je 2 ml NaCl 0,9% in alle Röhrchen, Zentrifugieren bei 2000 g für 2 min und Absaugen des Überstands bis auf 0,3 ml. Dieser Schritt wird 3x wiederholt.
9. Zählen der Radioaktivität (= antikörpergebundener Tracer) im γ -Counter

Es werden jeweils Doppelbestimmungen (ab Schritt 4.) durchgeführt; die sich ergebenden Zählraten für jede Probe bzw. Standard werden gemittelt. Zur Erstellung der Eichkurve werden sodann die relative Bindung der Standards (= Zählrate S_x / Zählrate S_0) gegen die Konzentration des Standards auf semilogarithmischem Papier aufgetragen. Bei einer eingesetzten Aktivität von ca. 2 kBq pro Röhrchen ergeben sich in der Regel Zählraten im Bereich von ca. 4000 cpm bei S_0 bis ca. 500 cpm bei S_6 . Abb. 1 zeigt eine derartige, typische Eichkurve, anhand derer die Konzentration der unbekannten Proben ermittelt werden kann.

Zur Vereinfachung und Optimierung der Auswertung wurde ein Computerprogramm entwickelt, welches die Erstellung der Eich-

kurve sowie die Berechnung der Konzentrationen anhand dieser Eichkurve übernimmt. Das Programm ist an sich universell einsetzbar, d.h. es ist auch zur Auswertung anderer RIAs oder ähnlicher Assays nach einmaliger Einspeicherung der spezifischen Parameter des Assays geeignet. Die Auswertung erfolgt dabei im Dialog mit dem Bildschirm. Nach Eingabe des Assaytyps fragt der Computer die Zählraten der einzelnen Standards ab; hier erfolgt simultan mit der Auflistung eine Berechnung der Mittelwerte und der relativen Bindung. Anschließend wird aus den gegebenen Daten eine Eichkurve erstellt. Die Abschnitte zwischen den Eichpunkten werden dabei durch ganze rationale Funktionen 3. Grades approximiert, sodaß eine an allen Stellen stetige und differenzierbare Eichkurve entsteht. Bei der nun folgenden eigentlichen Auswertung fragt der Rechner dann die Zählraten der einzelnen Proben sowie deren Vorverdünnung ab und berechnet hieraus, falls die Werte innerhalb der Eichkurve liegen, die Konzentration der Proben.

rel. Bindung (%)

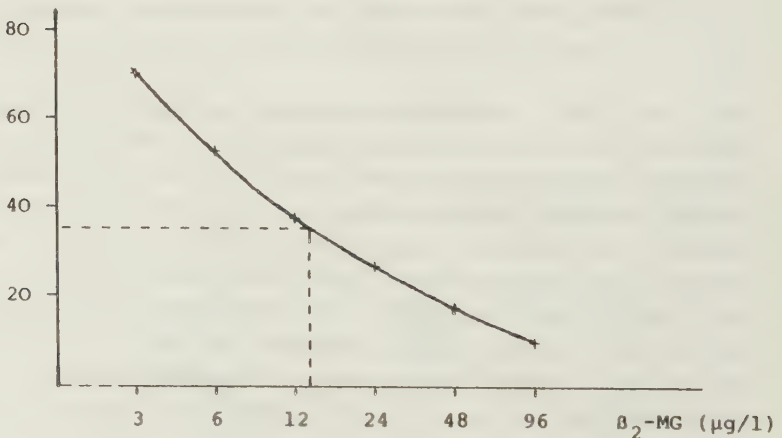


Abb. 1: Typische Eichkurve eines β_2 -MG-RIAs. Im Beispiel liest man bei einer relativen Bindung von 35% eine einge-setzte Konzentration von 14 $\mu\text{g/l}$ ab.

Alle gewonnenen Blutproben waren sofort nach der Entnahme abgesert und anschließend bei -20°C tiefgefroren worden. Urinproben waren, falls Ihr pH unter 6 lag, vor dem Einfrieren mit 1 N NaOH auf einen pH von 6 - 7 eingestellt worden. Damit war eine Stabilität aller Proben von mindestens zwei Monaten gewährleistet (17, 46, 61). Im Verlauf der Arbeit wurden so insgesamt ca. 450 Seren und ca. 50 Urine mit obiger Methode quantitativ auf β_2 -MG untersucht. Der Arbeitsaufwand für eine Serie von z.B. 20 Proben beträgt einschließlich Vorbereitung und Auswertung ca. 8 h.

Zur eigenen Qualitätskontrolle wurde pro Assay jeweils mindestens ein Kontrollserum der Fa. Pharmacia, Freiburg, wie eine unbekannte Probe behandelt und die Konzentration des β_2 -MG hierin bestimmt. Die gemessenen Werte lagen im Mittel bei 102% des Sollwerts; die Varianz betrug 7,5%, was praktisch dem vom Hersteller angegebenen Interassay-VK entspricht.

3) PROTEINURIE

Zur quantitativen Bestimmung von Protein bzw. Albumin im μg -Bereich existieren mehrere Methoden. In der vorliegenden Arbeit wurde ausschließlich die Proteinbestimmung mit Folin-Ciocalteus-Reagenz nach Lowry et al. (32) verwendet. In der im Folgenden beschriebenen Form erlaubt sie den Nachweis von Protein im Urin ab einer Konzentration von 10 mg/l. Zur Ausschaltung von Störeinflüssen durch andere im Urin enthaltene Substanzen wurden die Urinproben vor der eigentlichen Analyse zentrifugiert und die Überstände einer Fällung mit Trichloressigsäure unterzogen.

Das Prinzip der Proteinbestimmung nach Lowry et al. besteht in der Reduktion des Folin-Ciocalteus-Reagenz durch einen Protein-Kupfer-Komplex. Hierzu werden die einzelnen Proben mit einer Lösung aus CuSO_4 und Na-K-Tartrat inkubiert, wobei

sich der Protein-Kupfer-Komplex bildet. Nach Zugabe des (gelben) Folin-Reagenz wird dies entsprechend dem Proteingehalt der Probe zu einem (blauen) Reduktionsprodukt mit einem Absorptionsmaximum bei 745 nm umgewandelt. Da diese Reaktion saure Valenzen freisetzt, ihr Optimum aber bei pH 10 liegt, muß die Reaktionslösung gepuffert sein. Die Proben werden anschließend bei 745 nm photometriert. Da die Beziehung zwischen Extinktion und Konzentration nicht streng linear ist, erfolgt die Auswertung mittels einer Eichkurve. Es werden für alle Proben und Standards Doppelbestimmungen durchgeführt.

Verwendete Materialien und Geräte:

3 M Trichloressigsäure p.A.

0,1 N NaOH p.A.

Albuminstandardlösung, hergestellt aus 10 mg Rinderalbumin in 10 ml 0,1 N NaOH

Lösung A: 100 g Na_2CO_3 p.A. in 0,1 N NaOH p.A. ad 1000 ml

Lösung B: 122 mg $\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ p.A. + 244 mg Na-K-Tartrat in Aqua bidest. ad 1000 ml

Lösung C: 10 ml Lösung A + 41 ml Lösung B; jeweils vor Beginn einer Analysenserie frisch hergestellt Aqua bidest.

Folin-Ciocalteus-Reagenz (Merck Nr. 9601)

Pipetten 20 μl - 10 ml

Eppendorf-Reaktionsgefäße 1,5 ml mit Deckel

Zentrifuge 3000 g

Tischzentrifuge für Eppendorf-Gefäße

Pasteurpipette, Wasserstrahlpumpe

Spektralphotometer

Arbeitsschritte:

1. Zentrifugieren der Urinproben bei 2000 g für 10 min.
Verwerfen des Sediments
2. Pipettieren von je 0 (= Leerwert), 20, 50 und 100 μl Albuminstandardlösung in die vorbereiteten Röhrchen und ergänzen ad 500 μl mit Aqua bidest.

3. Pipettieren von je 500 μ l der Urinproben (oder entsprechende Vorverdünnung mit Aqua bidest.) in die vorbereiteten Röhrchen
4. Zugabe von je 500 μ l 3 M Trichloressigsäure zu allen Röhrchen; Schütteln (TCA-Fällung)
5. Zentrifugieren (4 min in der Tischzentrifuge) und Absaugen der Überstände mit der Pasteurpipette
6. Wiederaufnehmen der Niederschläge in je 200 μ l 0,1 N NaOH; Schütteln
7. Zugabe von je 500 μ l Lösung C in alle Röhrchen; Schütteln und Inkubation 10 min bei 20°C (Bildung des Cu-Protein-Komplexes)
8. Zugabe von je 50 μ l Folin-Reagenz; sofort Schütteln; Inkubation 30 min bei 20°C (Reduktion des Folin-Reagenz)
9. Photometrieren gegen H_2O bei 745 nm im Spektralphotometer

Die eigentliche Proteinbestimmung nach Lowry et al. umfaßt damit lediglich die Schritte 7. bis 9., während die übrigen nur der Aufbereitung der Proben dienen. Die Wahl der Standards ergab sich dabei aus Vorversuchen: Hierin erhielten wir regelmäßig eine bis 50 μ g Protein/Probe (entspricht 50 μ l Albuminstandard) annähernd lineare, dann leicht abknickende Eichkurve. Ab ca. 120 - 150 μ g Protein/Probe nimmt dann die Steigung der Eichkurve derart ab, daß eine Auswertung nicht mehr sinnvoll ist.

Nach Photometrierung aller Proben und Standards werden die gemessenen Extinktionen jeweils gemittelt (Doppelwerte!), und hiervon die Extinktion des Standards 0 μ g/l subtrahiert. Aus den Standardwerten wird eine Eichkurve erstellt (Abb. 2) und hiermit unter Berücksichtigung der Vorverdünnung die Proteinkonzentration in den Proben errechnet. Analog zur β_2 -MG-Bestimmung verwendeten wir auch hier ein (jedoch wesentlich weniger aufwendiges) Computerprogramm, welches die anfallenden Berechnungen übernahm.

Insgesamt wurden so im Verlauf dieser Arbeit ca. 500 Proteinbestimmungen durchgeführt. Einschließlich aller Vorbereitungen betrug der Arbeitsaufwand für eine Serie von 25 Proben ca. 6 h. Verwendet wurden jeweils 24 h - Sammelurine, von welchen ein Aliquot sofort nach Beendigung der Sammelperiode eingefroren worden war. Für das Albumin als Hauptbestandteil der Proteinurie ergibt sich so eine Stabilität von mehreren Monaten. Durch Einsetzen von Proben von bekannter Konzentration ermittelten wir einen Interassay-VK von 9,6% und eine Wiederfindungsrate von 95%. Diese verhältnismäßig schlechten Werte sind unseres Erachtens zu einem erheblichen Teil durch die zusätzlichen Arbeitsschritte im Rahmen der TCA-Fällung mitbedingt.

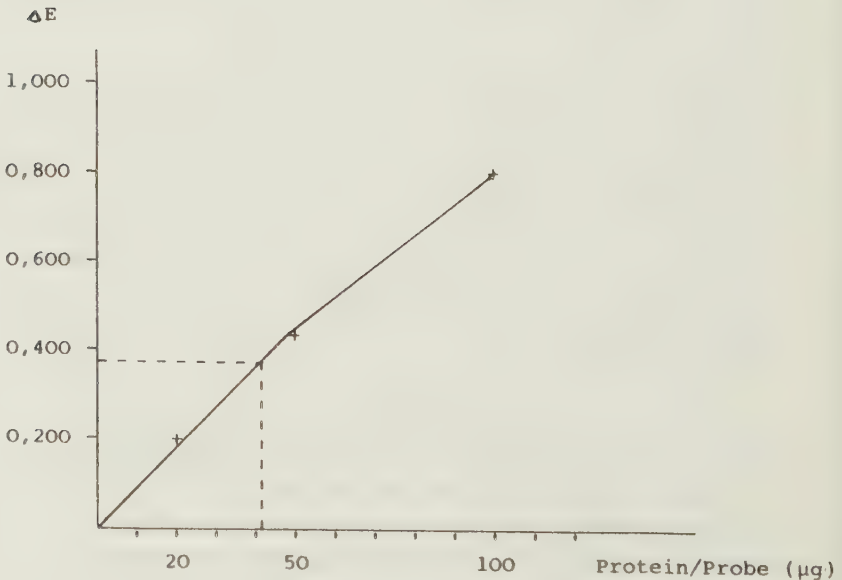


Abb. 2: Typische Eichkurve eines Proteinassays nach Lowry
al. Im Beispiel errechnet sich bei einem ΔE von 0,375
eine eingesetzte Proteinmenge von 42 μg

In Anlehnung an die Literatur legten wir die obere Normgrenze der Proteinurie auf 40 mg/die fest (3, 63). Die untere Nachweisgrenze der Methode betrug nach unseren Erfahrungen ca. 5 µg Protein/Probe, was bei einem Probenvolumen von 500 µl einer Konzentration von 10 mg/l entspricht. Bei einer normalen Diurese von z.B. 1500 ml/die können also noch normale Proteinausscheidungen sicher von einer bereits pathologischen Proteinurie unterschieden werden.

4) KREATININ / KREATININCLEARANCE

Sämtliche Kreatininbestimmungen in Seren und Urinen wurden im Routinelabor der Poliklinik der Universität mit einem Technicon-Autoanalyzer SMA Plus durchgeführt. Das Bestimmungsverfahren, auf das hier nicht näher eingegangen werden soll, beruht auf der konzentrationsabhängigen Bildung einer rotgefärbten Verbindung aus Kreatinin und zugesetzter Pikrinsäure, welche bei 492 nm photometrisch erfaßt werden kann (48). Als Normalbereich des Serumkreatinins wurden in Übereinstimmung mit den kliniksintern verwendeten Normbereichen Werte bis einschließlich 1,3 mg/dl angesehen.

Die Bestimmung der endogenen Kreatininclearance erfolgte in Anlehnung an die Methode nach Schirrmeyer et al. (53) bei einem Urinsammelzeitraum von 24 h. Zu Beginn und Ende der Sammelperiode fand jeweils eine Blutentnahme zur Bestimmung des Serumkreatinins statt; beide Werte wurden zur Berechnung der Clearance gemittelt. Die Patienten waren vor Beginn der Untersuchung über die Notwendigkeit einer vollständigen Blasenentleerung vor und am Ende der Sammelperiode aufgeklärt worden; die Diurese lag in allen Fällen über 2000 ml/die. In einer Probe des Sammelurins wurde sodann die Kreatininkonzentration bestimmt. Die Errechnung der Kreatininclearance erfolgte dabei nach der allgemein bekannten Formel:

$$C = \frac{U \cdot V}{S \cdot t}$$

wobei C = Kreatininclearance

U = Kreatininkonzentration im Urin

V = Urinsammelvolumen

S = Kreatininkonzentration im Serum

t = Urinsammelzeitraum

Zur Normierung der Kreatininclearance auf eine Körperoberfläche von 1,73 m² wurde zunächst nach der Formel von DuBois und DuBois (58) aus Körpergröße und -gewicht die Körperoberfläche errechnet:

$$O = 0,2025 \cdot L^{0,725} \cdot G^{0,425}$$

wobei O = Körperoberfläche in m²

G = Körpergewicht in kg

L = Körpergröße in m

Die normierte Kreatininclearance (C_n) ergibt sich dann aus der Beziehung:

$$C_n = \frac{C \cdot 1,73}{O}$$

Die unten beschriebenen Ergebnisse beziehen sich dabei immer, wenn nicht ausdrücklich etwas anderes vermerkt ist, auf die normierte endogene Kreatininclearance.

5) RETINOPATHIE

Bei der Mehrzahl der Diabetiker entwickelt sich das ophthalmoskopische Bild im Rahmen einer Retinopathia diabetica nach einem vorgegebenem Schema. So treten zunächst - oft nur wenige - Mikroaneurysmen als erste Anzeichen der Erkrankung auf. Hieraus entwickeln sich später kleine Einblutungen in die Retina; es finden sich auch erste, wachsartige Exsudate (cotton

wool spots). Im fortgeschrittenen Stadium der Retinopathie kommt es dann zu größeren intra- und präretinalen Blutungen; es findet eine Neovaskularisation der Retina statt (typische Gefäßproliferationen). Auch treten jetzt zahlreiche sogenannte harte Exsudate, die oft über Jahre hindurch persistieren können, auf. Das Endstadium schließlich ist gekennzeichnet durch eine weitere, massive Häufung der beschriebenen Erscheinungen und zusätzlich einer Ablösung der Netzhaut, die unbehandelt regelmäßig zur Erblindung führt.

In Abweichung zu der klassischen Stadieneinteilung nach Ballentyne (5) verwendeten wir zur Einstufung des Augenhintergrundbefundes in Anlehnung an das obige Entwicklungsmuster folgendes Schema:

- Stadium I: Ophthalmoskopisch keine Retinopathia diabetica sichtbar bzw. nur fluoreszenzangiografisch nachweisbare Mikroblutungen
- Stadium II: Mikroaneurysmen, kleine Netzhautblutungen (= Retinopathia diabetica simplex)
- Stadium III: Beginnende Proliferation, Exsudate, größere Blutungen
- Stadium IV: Massive Gefäßproliferationen und Exsudate, ausgedehnte prä- und intraretinale Blutungen, Ablatio retinae (Laserkoagulation nötig)

Bis auf wenige Ausnahmen wurden alle in dieser Arbeit erfaßten Diabetiker mindestens einmal fundoskopiert und zum Teil sogar fluoreszenzangiografiert. Die Untersuchung wurde jeweils von einem Ophthalmologen der Augenklinik der Universität durch die erweiterte Pupille durchgeführt; weitere anamnestische oder laborchemische Daten über den Verlauf des Diabetes mellitus waren dem Augenarzt dabei nicht bekannt.

Bei der Einstufung nach obigem Schema entfielen auf das Stadium I 56% der Diabetiker. 23% der Patienten hatten eine "benigne" Retinopathie, d.h. befanden sich im Stadium II. Eine

proliferierende Retinopathie fand sich bei 21% der Patienten, welche sich mit 12% auf das Stadium III und 9% auf Stadium IV verteilen. Um in der statistischen Auswertung der Ergebnisse die Kollektive nicht zu klein werden zu lassen, wurden die Stadien III und IV hierbei zusammengefaßt.

Wie nicht anders zu erwarten war, lag die mittlere Diabetesdauer bei Patienten ohne Retinopathie deutlich niedriger als bei Patienten mit Retinopathie (9,8 gegenüber 17,4 Jahre). Das mittlere Erstmanifestationsalter des Diabetes hingegen nimmt mit steigendem Grad der Retinopathie ab: Es betrug 50,8 Jahre beim Stadium I, 44,2 Jahre bei Stadium II und 36,6 Jahre bei Stadium III/IV.

6) HbA_1

HbA_1 ist ein Sammelbegriff für drei (HbA_{1a} , b , c) glykolidierte Derivate des Hämoglobins A. Die Biosynthese des HbA_1 vollzieht sich kontinuierlich in den Erythrozyten während Ihrer gesamten Lebensdauer. Diese Reaktion verläuft irreversibel und ist in ihrer Geschwindigkeit vom Blutzuckerspiegel abhängig. Dabei korreliert der HbA_1 -Anteil am Gesamthämoglobin gut mit dem Integral des Blutglucosespiegels über einen längeren Zeitraum (10, 21) und ist somit gut zur Kontrolle der korrekten Einstellung eines Diabetes geeignet.

Bei allen Patienten, die sich in der Dauerbetreuung der Medizinischen Poliklinik befinden, wird routinemäßig bei jedem Besuch eine HbA_1 -Bestimmung durchgeführt. Hierzu wird das im Folgenden noch näher erläuterte "Fast Hemoglobin Test System" der Fa. Panchem, Kleinwallstadt verwendet. Es basiert auf der von Schroeder et al. (1, 54) beschriebenen Methode. Der hierfür angegebene Normalbereich liegt bei Werten unter 8,5% HbA_1 -Anteil am Gesamthämoglobin. Zur statistischen Auswertung kamen

jeweils die Mittelwerte der HbA_1 -Konzentrationen aus den vergangenen zwei Jahren vor unserer Untersuchung.

Bei der verwendeten Methode erfolgt die Abtrennung des HbA_1 vom "normalen" Hämoglobin chromatografisch. Hierzu werden die hämolysierten Blutproben auf vorbereitete Trennsäulen aufgetragen und mit jeweils gleichen Mengen spezieller Elutionslösungen in zwei Fraktionen getrennt. HbA_1 wird als "schnellwanderndes" Hämoglobin in der 1. Fraktion eluiert, die anderen Hämoglobine finden sich in der 2. Fraktion. Nach entsprechender Verdünnung können die Hb-Konzentrationen in beiden Fraktionen photometrisch direkt bei 415 nm gemessen und daraus der HbA_1 -Anteil berechnet werden. Da die Effektivität der Trennsäulen stark von deren Temperatur abhängt, muß die Bestimmung im Wasserbad bei einer konstanten Temperatur von 23°C durchgeführt werden.

7) STATISTISCHE METHODEN

Falls nicht explizit etwas Gegenteiliges vermerkt ist, handelt es sich bei den angegebenen Mittelwerten ($\bar{x}$) und Standardabweichungen (s) für stetige Parameter wie Alter, Diabetesdauer, Serum- β_2 -MG und Serumkreatinin usw. um lineare Mittelwerte und Standardabweichungen. Bei den Parametern Proteinurie und β_2 -MG im Urin wurden hingegen stets logarithmische Mittelwerte berechnet, da hier eine angenähert logarithmische Normalverteilung vorliegt.

Zum Vergleich zweier oder mehrerer Teilkollektive hinsichtlich eines stetigen Parameters fand der t-Test für unverbundene Zufallsstichproben Verwendung. Der statistische Vergleich von Teilkollektiven hinsichtlich einer oder mehrerer definierter Eigenschaften erfolgte mit dem (modifizierten) Chi^2 -Test. Es wurden ausschließlich Signifikanzen mit einer Irrtumswahrscheinlichkeit von 5% oder weniger angegeben. Nahezu die

gesamte statistische Auswertung des gewonnenen Zahlenmaterials erfolgte mit Hilfe eines selbst entwickelten Computerprogramms. Es ermöglichte nach Eingabe sämtlicher Daten unter anderem die Berechnung von Mittelwert und Standardabweichung eines Parameters in beliebig definierbaren Teilkollektiven, die Berechnung von Korrelationskoeffizienten, das Auszählen von Vierfeldertafeln sowie die Anwendung der erwähnten statistischen Tests auf die hierbei erstellten Ergebnisse.

III) ERGEBNISSE

1) KONTROLLPERSONEN

Bei den 50 gesunden Kontrollpersonen wurde, wie weiter oben beschrieben, je eine Nüchternblutprobe abgenommen und der Serum- β_2 -MG-Spiegel bestimmt. Die Ergebnisse lagen dabei im Mittel bei 1,65 mg/l; der Referenzbereich ($\bar{x} \pm 2s$) reicht von 1,0 - 2,3 mg/l. Die Verteilung der Werte zeigt Abb.3. Der von verschiedenen Autoren angegebene obere Normwert von 2,4 mg/l (26, 30) konnte somit bestätigt werden. Eine Altersabhängigkeit oder Sexotropie der Werte konnten wir nicht nachweisen; aufgrund des relativ kleinen untersuchten Kollektivs kann diese jedoch nicht sicher ausgeschlossen werden. Wenn nichts Anderes vermerkt ist, werden im Folgenden unter erhöhten Serum- β_2 -MG-Spiegeln daher Werte über 2,4 mg/l verstanden.

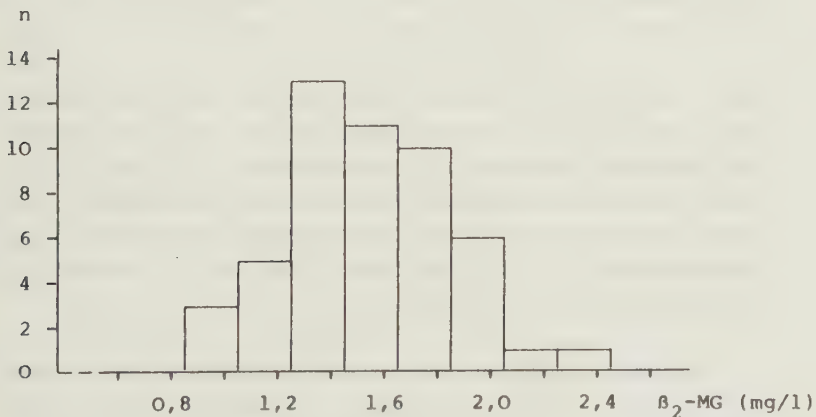


Abb. 3: Verteilung der β_2 -MG-Serumspiegel bei 50 gesunden Kontrollpersonen

Wie bereits erwähnt, wurde bei 20 Patienten (überwiegend Nicht-Diabetiker) mit und ohne Einschränkung der Nierenfunktion eine 24 h - Kreatininclearancebestimmung durchgeführt sowie der β_2 -MG-Spiegel im Serum bestimmt. Es fanden sich (normierte) Kreatininclearances von 9 - 188 ml/min (Median: 48 ml/min). Die zugehörigen Serumkreatininspiegel bewegten sich zwischen 0,9 und 7,3 mg/dl (Median: 1,9 mg/dl); das Serum- β_2 -MG zwischen 1,2 und 11,2 mg/l (Median: 4,2 mg/l).

Zwischen der GFR und damit auch der Kreatininclearance als annäherndes Maß für die GFR und Retentionsparametern wie Serumkreatinin oder β_2 -MG sollte im Idealfall eine reziproke Beziehung bestehen. Bei doppelt-logarithmischer Darstellung würde hieraus eine lineare Beziehung der Form $y = a_x \cdot x + t$ (wobei $a_x < 0$, entsprechend einer Geraden von links oben nach rechts unten). Abb. 4 zeigt daher die Beziehung zwischen β_2 -MG im Serum und der endogenen Kreatininclearance in zweifach-logarithmischer Darstellung. Es ergibt sich hierbei ein Korrelationskoeffizient von $r = -0,94$. Die Regressionsgerade hat die Gleichung $\log y = 1,81 - 0,74 \cdot \log x$. Dies entspricht annähernd der zu erwartenden reziproken Beziehung zwischen den beiden Parametern, diese lautet dann nämlich: $y = 65 \cdot x^{-0,74}$.

Mit 2,4 mg/l bzw. 85 ml/min als Grenzen des Normalbereichs für β_2 -MG bzw. die endogene Kreatininclearance fanden wir einen einzigen Patienten mit noch normalem (2,2 mg/l) β_2 -MG, jedoch bereits pathologischer Clearance (80 ml/min). Die niedrigste gemessene Kreatininclearance bei noch normalem Serumkreatinin betrug 39 ml/min; das β_2 -MG war bei diesem Patienten mit 4,2 mg/l bereits deutlich erhöht.

Serum- β_2 -MG
(mg/l)

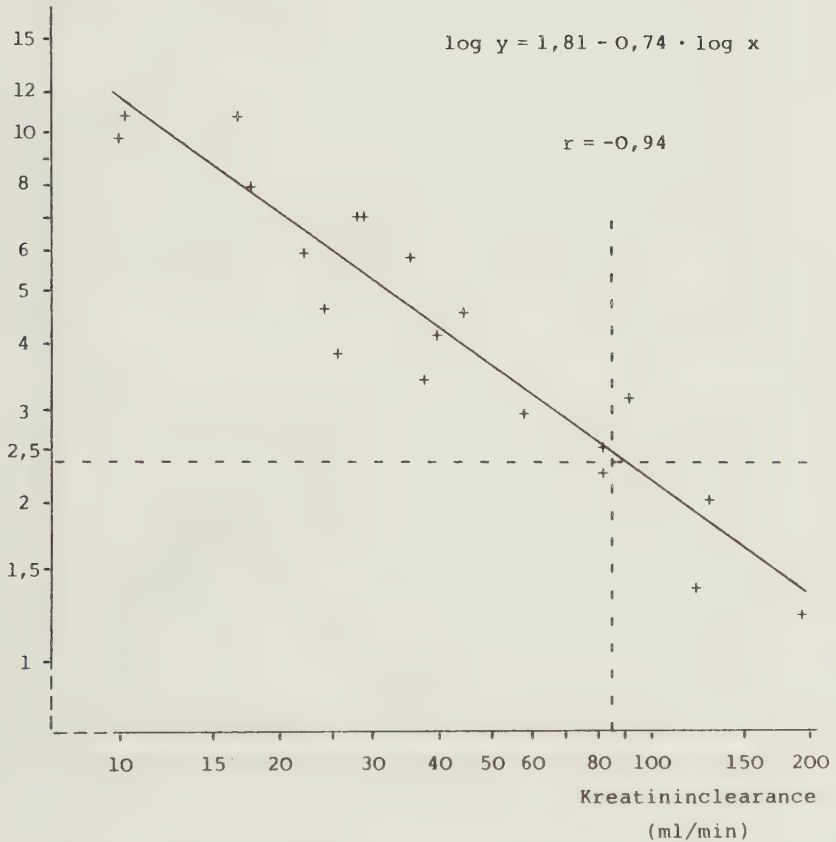


Abb. 4: Korrelation zwischen endogener Kreatinin-clearance und Serum- β_2 -MG bei 20 Patienten. Doppelt-logarithmische Darstellung. Beim Nierengesunden (β_2 -MG z.B. 1,5 mg/l) errechnet sich hieraus ein Tagesumsatz des β_2 -MG von 324 mg / 1,73 m² KO.

2) PARAMETER DER NIERENFUNKTION

Als Parameter der Nierenfunktion wurden zusätzlich zu dem in der klinischen Routine klassischen Kreatinin im Serum das β_2 -MG im Serum und Urin sowie das Ausmaß der Proteinurie mitbestimmt. Für das Gesamtkollektiv fanden sich dabei Werte für Kreatinin von 0,6 - 3,4 mg/dl bzw. β_2 -MG von 1,1 - 10,6 mg/l. Das Ausmaß der Proteinurie bewegte sich im Bereich von 5 - 11800 mg/die; für das β_2 -MG im Urin fanden wir Werte von 10 - 12000 μ g/die. Nachdem sich abzeichnete, daß die Bestimmung des β_2 -MG im Urin zur Erfassung einer beginnenden Nephropathie wenig geeignet ist (siehe unten), wurde diese Untersuchung nicht mehr weiter durchgeführt. Die übrigen drei Parameter der Nierenfunktion sollen nun im Folgenden gegenübergestellt werden.

Die Beziehung zwischen den beiden, die GFR direkt widerspiegelnden Größen β_2 -MG und Kreatinin zeigt Abb. 5. Zwischen beiden Parametern besteht eine Korrelation mit $r=0,82$. Bei den gegebenen Normalbereichen von $\leq 1,3$ mg/dl für Kreatinin bzw. $\leq 2,4$ mg/l für β_2 -MG im Serum besteht somit bei 62% der Patienten eine unauffällige Nierenfunktion, während bei 12% der Patienten beide Werte erhöht sind. Insgesamt etwa ein Viertel der Diabetiker (26%) weisen einen bereits erhöhten β_2 -MG-Spiegel bei noch normalem Serumkreatinin auf, hier ist also eine latente Niereninsuffizienz im "kreatininblinden" Bereich zu vermuten. Patienten, bei denen das β_2 -MG noch normal, das Kreatinin jedoch bereits erhöht war, befinden sich nicht in unserem Kollektiv.

Bei der im Alter physiologischerweise abnehmenden GFR schlägt der Hersteller des verwendeten β_2 -MG-RIA-Kits, die Firma Pharmacia, Freiburg, unter Verweis auf die Ergebnisse von Evrin und Wibell (17) vor, den Normalbereich für β_2 -MG im Serum altersabhängig zu staffeln. Aufgrund einer Untersuchung an 183 Probanden (46) wird so für die bis 40-jährigen 2,0,

Serumkreatinin
(mg/dl)

$$r = 0,82$$

$$y = 0,40 + 0,28 \cdot x$$

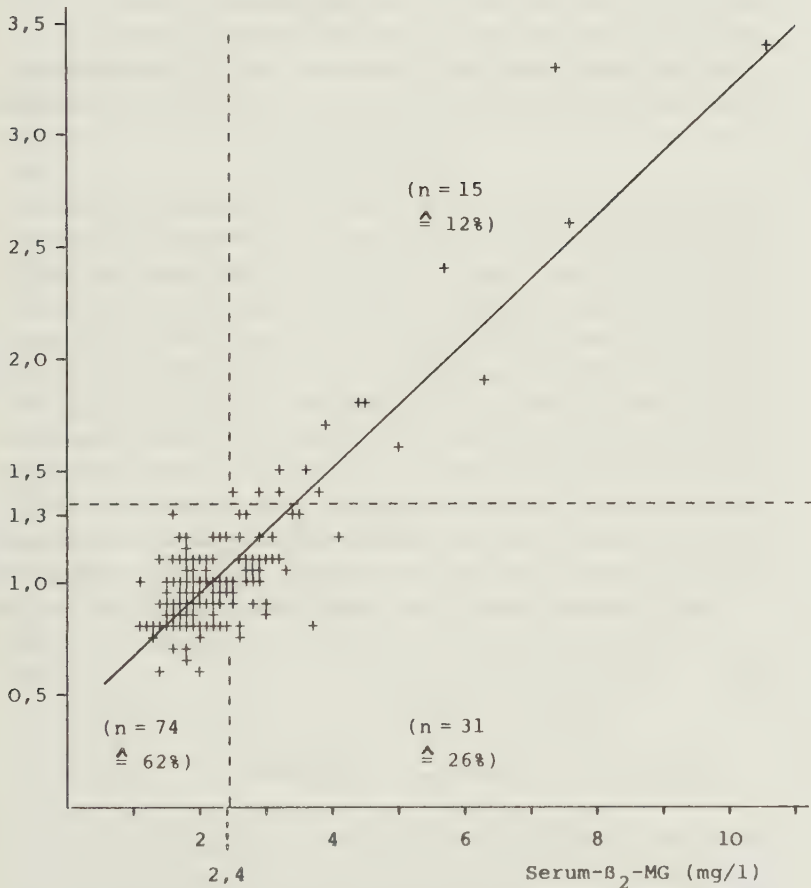


Abb. 5: Beziehung zwischen Kreatinin im Serum und β_2 -MG im Serum bei 120 Diabetikern. In Klammern jeweils Zahl der Patienten mit normalen bzw. erhöhten Serumwerten für β_2 -MG bzw. Kreatinin bei Darstellung als Vierfelder-tafel.

für die bis 60-jährigen 2,6 und für die über 60-jährigen sogar 3,1 mg/l als obere Normgrenze angegeben. Auch bei Anwendung dieser Referenzbereiche auf unser Kollektiv würde sich obiges Ergebnis nur graduell ändern. Es fänden sich dann noch 31 Patienten mit pathologischem β_2 -MG, von denen nur 14 ein erhöhtes Serumkreatinin aufwiesen. Lediglich bei einem Patienten wäre das Serumkreatinin mit 1,45 mg/dl bei noch normalem β_2 -MG (2,5 mg/l; Alter 52 Jahre) pathologisch erhöht.

Bei 45% aller Diabetiker besteht eine definitionsgemäß pathologische Proteinurie von mehr als 40 mg/die. Im Vergleich der Proteinurie mit Kreatinin ergibt sich bezüglich der Verteilung auf normale und pathologische Werte ein ähnliches Bild wie oben: 53% der Diabetiker haben ein normales Serumkreatinin und keine pathologische Proteinurie, bei 11% der Patienten sind beide Werte erhöht. 34% haben eine Proteinurie > 40 mg/die (höchster Wert: 5500 mg/die) ohne Erhöhung des Serumkreatinins. Es finden sich jedoch auch zwei Patienten (2%), die trotz angestiegenem Serumkreatinin (1,4 bzw. 1,7 mg/dl) eine noch normale Eiweißausscheidung haben. Die β_2 -MG-Spiegel dieser beiden Patienten liegen mit 3,8 bzw. 3,9 mg/l bereits deutlich im pathologischen Bereich; bei beiden besteht eine Retinopathia diabetica Grad III bzw. II.

	β_2 normal	β_2 erhöht	Summe
PU normal	40	13	53
PU erhöht	17	27	44
Summe	57	40	97

Tab. 1: Verteilung der untersuchten Diabetiker bezüglich erhöhter (> 40 mg/die) Proteinausscheidung (=PU) bzw. erhöhtem ($> 2,4$ mg/l) Serum- β_2 -MG (= β_2).

	β_2 erhöht PU normal	PU erhöht β_2 normal	Summe	Signi- fikanz
Hypertonie	10	4	14	$p < 0,01$
keine Hypertonie	3	13	16	
Retinopathie I	6	11	17	keine
Ret. II, III, IV	7	6	13	
IDD	3	12	15	$p < 0,02$
NIDD	10	5	15	
Summe jeweils	13	17	30	
			Gesamt- mittel	
Diabetesdauer (Jahre)	12,2 $\pm 6,7$	12,4 $\pm 9,0$	12,3 $\pm 8,0$	keine
Alter (Jahre)	66,8 $\pm 10,5$	56,6 $\pm 17,1$	61,0 $\pm 14,3$	keine
HbA ₁ -Anteil (%)	12,0 $\pm 1,2$	10,8 $\pm 2,6$	11,3 $\pm 2,0$	keine

Tab. 2: Diabetiker mit noch normaler (≤ 40 mg/die) Proteinausscheidung (=PU) bei bereits erhöhtem Serum- β_2 -MG (β_2) bzw. noch normalem Serum- β_2 -MG ($\leq 2,4$ mg/l) bei bereits erhöhter Proteinausscheidung: Verteilung der Patienten mit bzw. ohne Hypertonie, Retinopathie sowie insulinabhängigem (IDD) bzw. nicht insulinabhängigem (NIDD) Diabetes und Mittelwerte von Alter, Diabetesdauer und HbA₁-Anteil bei diesen beiden Gruppen.

Die meisten pathologischen Fälle erfaßt man erwartungsgemäß bei Verwendung beider zusätzlich zum Serumkreatinin eingesetzten Methoden. Tab. 1 zeigt den Vergleich der beiden Parameter Mikroproteinurie und Serum- β_2 -MG. Demnach bestehen bei 17 bzw. 13 Patienten des Gesamtkollektivs erhöhte Werte für Eiweißausscheidung bzw. β_2 -MG im Serum, während der jeweils andere Parameter noch normal ist. In beiden Gruppen finden sich dabei Patienten mit bereits massiver Erhöhung des einen Parameters, ohne daß der andere ebenfalls eine Störung der Nierenfunktion anzeigen würde.

Tab. 2 gibt eine Übersicht über die Verteilung wichtiger anderer krankheitsspezifischer Parameter in diesen beiden Gruppen. So finden sich unter den Diabetikern mit erhöhtem Serum- β_2 -MG und unauffälliger Proteinausscheidung signifikant mehr Patienten mit Hypertonie ($p < 0,01$) sowie (nicht signifikant) mehr Patienten mit einer Retinopathia diabetica. In der anderen Gruppe (β_2 -MG normal, Proteinurie pathologisch) ist die Zahl der Typ-I-Diabetiker signifikant höher. Dies schlägt sich auch in dem niedrigeren Altersdurchschnitt (56,6 gegenüber 66,8 Jahre) nieder. Die Diabetesdauer ist bei beiden Gruppen im Mittel nahezu gleich; ebenso bestehen nur geringe, nicht signifikante Differenzen beim mittleren HbA₁-Anteil.

Bei insgesamt 45 Patienten bestimmten wir zum Teil mehrmals die Ausscheidung von β_2 -MG im Urin. Der hierfür angegebene und verwendete Normbereich liegt bei ≤ 370 $\mu\text{g/die}$ (46). Bei 3 der untersuchten Diabetiker fanden wir hierbei pathologische Werte. Wie aus Abb. 6 ersichtlich ist, lagen bei diesen 3 Fällen jeweils bereits stark erhöhte β_2 -MG-Spiegel im Serum (5,7 - 7,6 mg/l) vor, sodaß die vermehrte β_2 -MG-Ausscheidung wohl auf ein "Überlaufen" (d.h. ein ab etwa 5 mg/l β_2 -MG-Serumkonzentration beginnendes Überschreiten der tubulären Rückresorptionskapazität) zurückzuführen ist. Eine Korrelation mit anderen diabetesspezifischen Parametern fanden wir dabei nicht. Angesichts der Tatsache, daß sich die diabetische Nephropathie primär und überwiegend glomerulär

β_2 -MG im Urin
(mg/die)

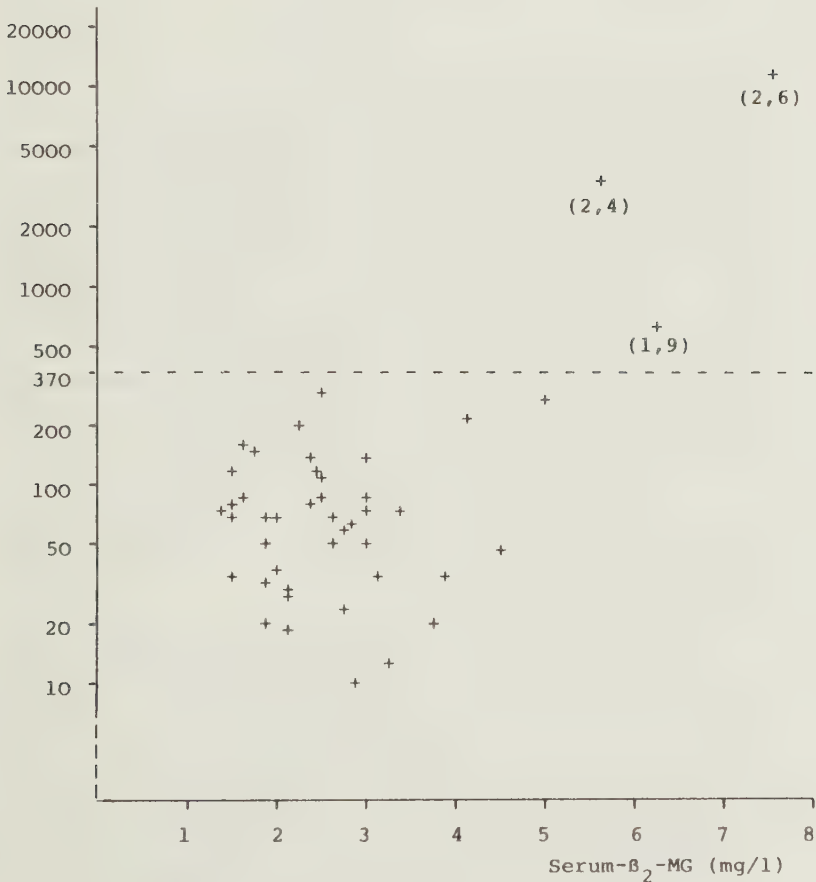


Abb. 6: Beziehung zwischen β_2 -MG im Serum und täglicher β_2 -MG-Ausscheidung im Urin (Normalbereich: $\leq 370 \mu\text{g/die}$). Bei Patienten mit pathologisch erhöhter β_2 -MG-Ausscheidung ist in Klammern jeweils der Kreatininspiegel, im Serum angegeben.

manifestiert, das β_2 -MG im Urin jedoch als ein Parameter der tubulären Nierenfunktion anzusehen ist, war das auch nicht unbedingt zu erwarten gewesen. Wir setzten daher die Bestimmung des Urin- β_2 -MG nicht mehr weiter fort.

3) NIERENFUNKTION UND RETINOPATHIE

Da sowohl die Augenhintergrundsveränderungen bei der Retinopathia diabetica als auch die diabetische Nephropathie Ausdruck einer diabetischen Mikroangiopathie sind, ist eine Parallelentwicklung dieser beiden Folgeerkrankungen zu erwarten. Wie bereits dargelegt, existiert für die Ausprägung der Retinopathie jedoch kein stetiger Parameter, sondern lediglich die grobe und oft problematische Einteilung in die einzelnen Stadien. Hier mußte aus statistischen Gründen noch eine weitere Vereinfachung vorgenommen werden, sodaß im Folgenden lediglich zwischen:

- | | |
|--------------------------------|------------------|
| - (noch) keine Retinopathie | (Stadium I) |
| - beginnende Retinopathie | (Stadium II) und |
| - proliferierende Retinopathie | (Stadium III/IV) |

unterschieden wird.

In der Annahme, daß der β_2 -MG-Spiegel im Serum bzw. dessen Erhöhung ein Maß für die diabetische Nephropathie darstellt, setzten wir diesen mit den Retinopathiestadien in Beziehung: Mit steigendem Grad der Retinopathie nehmen die mittleren β_2 -MG-Spiegel als wahrscheinliches Zeichen einer Mitbeteiligung der Nieren zu (Abb. 7). Die Unterschiede zwischen den Stadien I und II bzw. II und III/IV sind statistisch auf dem 5%-Niveau signifikant. Zwischen Diabetikern mit und ohne Retinopathie besteht ein signifikanter Unterschied mit $p < 0,01$.

Das Serumkreatinin verhält sich ähnlich, jedoch weit weniger deutlich: Wir errechneten für Patienten mit Stadium I ein mittleres Serumkreatinin von $0,97 \pm 0,19$ mg/dl, mit Stadium II

β_2 -MG (mg/l)

Signifikanzen:

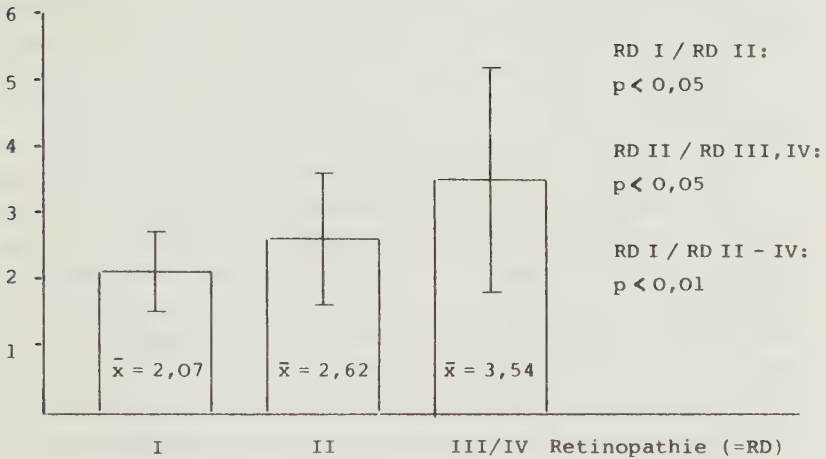


Abb. 7: Mittlere β_2 -MG-Spiegel im Serum in Abhängigkeit vom Stadium der Retinopathie (jeweils $\bar{x} \pm s$).

Proteinurie
(mg/die)

Signifikanzen:

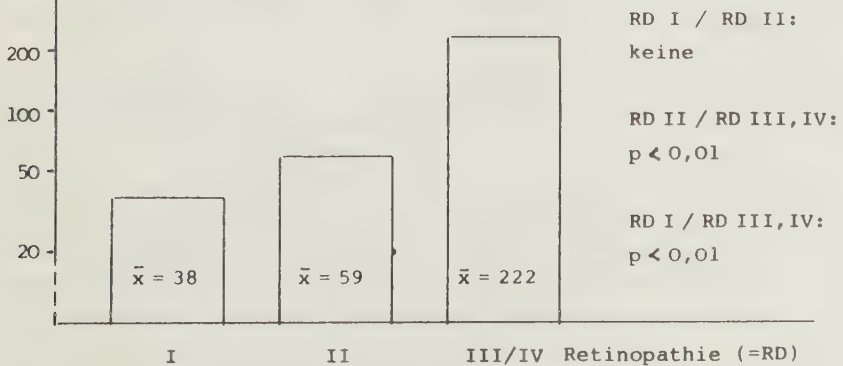


Abb. 8: Logarithmische Mittel der Proteinurie in Abhängigkeit vom Stadium der Retinopathie.

1,17 ± 0,51 mg/dl und bei Stadium III/IV 1,39 ± 0,61 mg/dl (jeweils $\bar{x} \pm s$). Damit besteht im t-Test für unverbundene Zufallsstichproben kein signifikanter Unterschied zwischen benachbarten Gruppen. Zwischen Diabetikern mit und ohne Retinopathie ergibt sich eine Signifikanz auf dem 5%-Niveau.

Das Ausmaß der Proteinurie steigt mit zunehmender Retinopathie ebenfalls (Abb. 8). Auffällig ist hier jedoch, daß die logarithmischen Mittel der Proteinurie zwischen den Gruppen I und II nur wenig (nicht signifikant) differieren. Im Stadium III/IV tritt hingegen bei den meisten Patienten eine pathologische Proteinurie auf, wodurch sich die Gruppen I bzw. II von III/IV jeweils auf dem 1%-Niveau unterscheiden.

Es sind jedoch offensichtlich fast alle Kombinationen von Retinopathie und Nephropathie möglich. So fanden wir bei einer Patientin ohne ophthalmoskopisch erkennbare Retinopathie bei mehrfachen Bestimmungen eine Proteinausscheidung von bis zu 2200 mg/die. Das Serum- β_2 -MG betrug hierbei 3,2 mg/l, das Serumkreatinin 1,2 mg/dl. Eine Hypertonie als mögliche andere Ursache der Niereninsuffizienz bestand nicht. Ebenso war bei je zwei Patienten trotz Retinopathia diabetica im Stadium III bzw. IV mit den von uns verwendeten Methoden keine Nierenfunktionsstörung nachweisbar.

Verwendet man sowohl Serumkreatinin als auch β_2 -MG im Serum als Parameter der Nierenfunktion, so erlaubt dies eine Einteilung der Patienten in drei Gruppen mit:

- normalem β_2 -MG ($\leq 2,4$ mg/l) und normalem Kreatinin ($\leq 1,3$ mg/dl) = keine Niereninsuffizienz,
- bereits pathologischem β_2 -MG ($> 2,4$ mg/l) bei noch normalem Kreatinin ($\leq 1,3$ mg/dl) = "latente" Niereninsuffizienz, sowie
- pathologischem β_2 -MG ($> 2,4$ mg/l) und Kreatinin ($> 1,3$ mg/dl) = manifeste Niereninsuffizienz.

Bezüglich dieser drei Gruppen gibt es zwischen den einzelnen Retinopathiestadien eine auffällige, statistisch signifikante ($p < 0,02$) Umverteilung (Abb. 9). Diabetiker ohne Retinopathie haben nämlich nur zu 6% ein erhöhtes Kreatinin und zu 22% eine latente Niereninsuffizienz. Mit zunehmendem Grad der Retinopathie nimmt die Zahl der Patienten ohne Einschränkung der Nierenfunktion immer mehr ab, während der Anteil der manifesten Niereninsuffizienz auf 40% (bei Stadium III/IV) ansteigt. Nun kann man das Stadium der Retinopathie als Gradmesser für die "Agressivität" eines Diabetes bezüglich seiner Begleiterkrankungen betrachten. Unter dieser Prämisse sieht man, wie mit zunehmender Wirkung der die Mikroangiopathie verursachenden Faktoren sich bei den Nierengesunden eine latente Niereninsuffizienz und bei den Diabetikern mit latenter Niereninsuffizienz eine manifeste Niereninsuffizienz entwickelt.

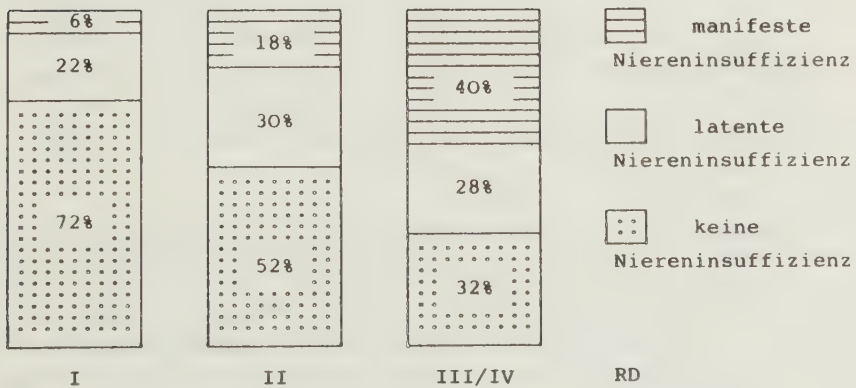


Abb. 9: Verteilung der Patienten mit normaler Nierenfunktion, latenter oder manifester Niereninsuffizienz (siehe Text) in den verschiedenen Stadien der Retinopathie (RD).

Bezieht man das Ausmaß der Proteinurie als Parameter der diabetischen Nephropathie in obige Einteilung mit ein, so wird der Anteil der Patienten ohne jedes Zeichen einer Nephropathie naturgemäß kleiner. Im Stadium I verbleiben dann noch 53%, im Stadium II 41% und im Stadium III/IV - wie bereits erwähnt - 18% (das sind 4 Diabetiker) an Patienten mit "normaler" Nierenfunktion.

4) HbA_1

Die im Rahmen unserer Untersuchungen errechneten HbA_1 -Werte geben als jeweiliger Mittelwert der letzten zwei Jahre einen gewissen Aufschluß über die Qualität der Stoffwechseleinstellung der einzelnen Patienten. Von 6 Ausnahmen (alles nicht insulinabhängige Diabetiker) abgesehen liegen bei allen Patienten erhöhte Werte für den HbA_1 -Anteil vor (Norm $< 8,5\%$). Der Durchschnittswert aller Patienten lag bei 11,2%. Abb. 10 stellt die Verteilung der HbA_1 -Spiegel im Gesamtkollektiv dar.

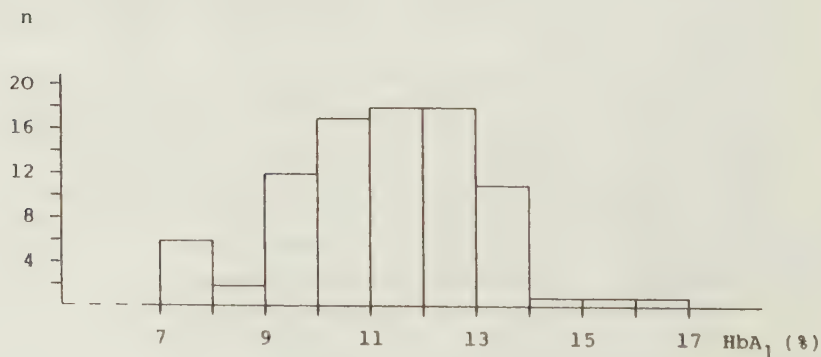


Abb. 10: Verteilung der HbA_1 -Spiegel bei insgesamt 87 erfaßten Patienten des Gesamtkollektivs.

In der Annahme, daß eine schlecht eingestellte Stoffwechsellage der Entstehung der diabetischen Mikroangiopathie Vorschub leistet, teilten wir die Patienten in eine Gruppe mit $HbA_1 \leq 11\%$, also mit relativ gut eingestelltem Diabetes und solche mit $HbA_1 > 11\%$, welche schlechter eingestellt bzw. einstellbar waren. Innerhalb dieser beiden Gruppen untersuchten wir jeweils die Häufigkeit des Bestehens einer Retinopathie oder Nephropathie, letztere gemessen an einer pathologischen Proteinurie und/oder erhöhten Serumsiegeln von β_2 -MG respektive Kreatinin (Tab. 3).

Es zeigt sich hierbei, daß bei den "gut eingestellten" Diabetikern die Fälle ohne Zeichen einer Nephropathie deutlich überwiegen, während sie bei HbA_1 -Werten über 11% nur noch etwa die Hälfte ausmachen. Diese Umverteilung ist lediglich bei Verwendung von β_2 -MG als Parameter der Nierenfunktion signifikant ($p < 0,02$). Bei dem Ausmaß der Proteinurie ist die Tendenz deutlich zu erkennen: von 11 Patienten mit einer Eiweißausscheidung von über 150 mg/die befinden sich immerhin 9 in der Gruppe mit "schlecht eingestelltem" Diabetes. Hinsichtlich der Entwicklung der Retinopathie konnten wir zwischen Stadium I und II nur geringfügige Differenzen der Diabeteseinstellung beobachten. Patienten mit proliferierender Retinopathie hingegen haben fast ausschließlich HbA_1 -Werte über 11% . Das mittlere HbA_1 liegt bei diesen Patienten bei $12,4 \pm 1,0\%$ ($\bar{x} \pm s$) und damit signifikant ($p < 0,02$) über dem der restlichen Diabetiker.

Die Aussagekraft dieser Ergebnisse wird jedoch durch die Tatsache eingeschränkt, daß die mittlere Diabetesdauer der "gut eingestellten" Diabetiker mit 11,1 Jahren deutlich unter der der "schlecht eingestellten" von 16,4 Jahren liegt. Das Durchschnittsalter unterscheidet sich in beiden Gruppen mit 60 bzw. 61 Jahren dabei im Übrigen nicht. Wie aus Abb. 11 hervorgeht, zeigt der mittlere β_2 -MG-Serumspiegel aller untersuchten Diabetiker mit zunehmender Krankheitsdauer eine im Wesentlichen steigende Tendenz, lediglich in der Gruppe mit über 30-jähri-

	HbA ₁ ≤ 11,0%	HbA ₁ > 11,0%	Signifikanz
Krea ≤ 1,3 mg/dl	39 (27)	39 (35)	keine (keine)
Krea > 1,3 mg/dl	6 (6)	3 (3)	
β ₂ -MG ≤ 2,4 mg/l	31 (23)	22 (19)	p < 0,02 (p < 0,02)
β ₂ -MG > 2,4 mg/l	11 (7)	23 (22)	
PU ≤ 40 mg/die	24 (18)	23 (21)	PU ≤ 40 / PU > 40: keine (keine)
40 < PU ≤ 150 mg/die	9 (6)	9 (8)	
PU > 150 mg/die	2 (2)	9 (9)	PU ≤ 150 / PU > 150: p < 0,05 (keine)
RD I	32 (21)	20 (20)	RD I / RD II-IV: p < 0,01 (keine)
RD II	9 (7)	11 (11)	
RD III/IV	2 (2)	14 (10)	RD I, II / RD III/IV: p < 0,002 (p < 0,05)
Diabetesdauer in Jahren	11,1 ± 7,0 (13,9 ± 6,3)	16,4 ± 8,1 (13,6 ± 7,2)	p < 0,01 (keine)
Alter in Jahren	61 ± 16 (60 ± 16)	60 ± 15 (59 ± 14)	keine (keine)

Tab. 3: Diabetiker mit "gut" (HbA₁ ≤ 11,0%) und "schlecht" (HbA₁ > 11,0%) eingestelltem Diabetes: Zahl der Patienten mit normalen bzw. erhöhten Werten für Serumkreatinin (Krea), Serum-β₂-MG (β₂-MG) und Eiweißausscheidung (PU) sowie verschiedenen Stadien der diabetischen Retinopathie (RD); weiters Mittelwerte von Alter und Diabetesdauer innerhalb dieser beiden Gruppen. In Klammern jeweils die entsprechenden Werte bzw. Signifikanzen bei Auswertung der "angeglichenen" Kollektive (siehe Text).

ger Diabetesdauer liegt er auffällig niedrig. Wir versuchten daher durch Streichung eines Teils der Patienten aus der statistischen Auswertung den Einfluß des Faktors "Diabetesdauer" als mögliche Ursache für die unterschiedliche Ausprägung der Mikroangiopathie in Zusammenhang mit den HbA_1 -Werten zu eliminieren. In den dabei entstandenen "angeglichenen" Kollektiven mit bezüglich Alter und Diabetesdauer nahezu identischer Zusammensetzung zeigt sich nun ein teilweise verändertes Bild (Tab. 3): Wir finden verringerte bzw. fehlende Signifikanzen in der Ausprägung der Retinopathie und der Proteinurie bezüglich der Diabeteseinstellung, wobei fraglich ist, ob sich dies allein durch die geringfügig verringerte Fallzahl erklären läßt. Der signifikant höhere Anteil an Patienten mit pathologischen β_2 -MG-Serumwerten unter den "schlecht eingestellten" Diabetikern bleibt jedoch auffälligerweise unverändert. Ebenso besteht unverändert kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Serumkreatinin und der Diabeteseinstellung.

Serum- β_2 -MG (mg/l)

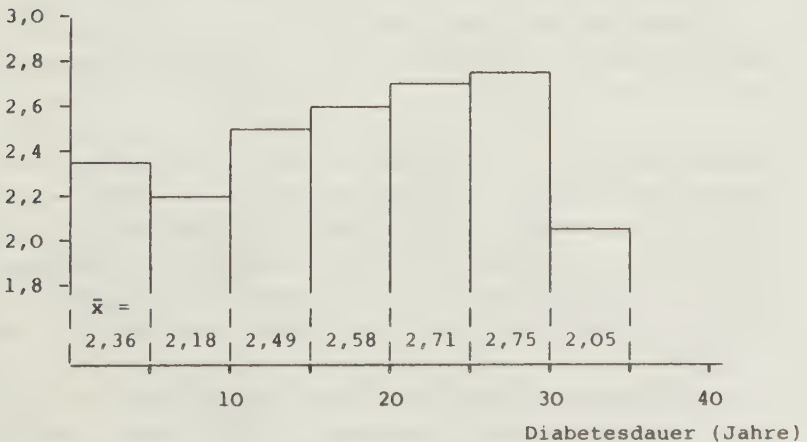


Abb. 11: Abhängigkeit des mittleren β_2 -MG-Spiegels im Serum von der Diabetesdauer (Gesamtkollektiv).

5) IDD / NIDD

Das untersuchte Patientengut teilt sich in 43% insulinpflichtige und 57% nicht insulinpflichtige Diabetiker. Letztere werden mit einer diabetesgerechten Diät und bei Bedarf mit Sulfonylharnstoffderivaten behandelt. Bezüglich der Entstehung der diabetischen Folgeschäden treten zwischen diesen beiden Gruppen einige Unterschiede zutage, welche unter Umständen zwei verschiedene Varianten der Entwicklung der diabetischen Mikroangiopathie bei Typ I- und Typ II-Diabetikern vermuten lassen.

So haben die IDD-Patienten mit einem mittleren Serum- β_2 -MG von $2,78 \pm 1,61$ mg/l deutlich höhere Werte als die NIDD-Patienten mit $2,32 \pm 0,88$ mg/l. Dieser Unterschied ist jedoch statistisch nicht signifikant. Auffälliger ist die Verteilung der pathologisch erhöhten β_2 -MG-Spiegel in den beiden Gruppen. Setzt man 3,2 mg/l als Grenze zwischen "mäßig erhöhtem" und "stark erhöhtem" β_2 -MG, so finden sich lediglich mehr 7% Patienten mit stark erhöhten Werten in der NIDD-Gruppe, während es in der IDD-Gruppe noch 21% sind (Abb. 12). Diese Verteilung unterscheidet sich im χ^2 -Test statistisch signifikant auf dem 5%-Niveau. Das Kreatinin im Serum zeigt, wie zu erwarten, eine ähnliche, jedoch weniger ausgeprägte Tendenz.

Wesentlich deutlicher als bei den von der GFR abhängigen Parametern sind jedoch die Differenzen bei der Proteinurie: Während bei den NIDD-Diabetikern eine Eiweißausscheidung von im logarithmischen Mittel 42 mg/die besteht, liegt dieser Wert bei den IDD-Diabetikern bei 113 mg/die ($p < 0,05$). Ebenso charakteristisch ist die Verteilung des Ausmaßes der Proteinurie, wie sie in Abb. 13 dargestellt wird: Bei den meisten nicht insulinabhängigen Diabetikern liegt nämlich, wenn überhaupt, nur eine relativ milde Proteinurie von ≤ 150 mg/die vor. Nur bei 5 von ihnen (=9%) wurde dieser Wert überschritten. Hingegen besteht bei den insulinabhängigen Diabetikern in 62% der

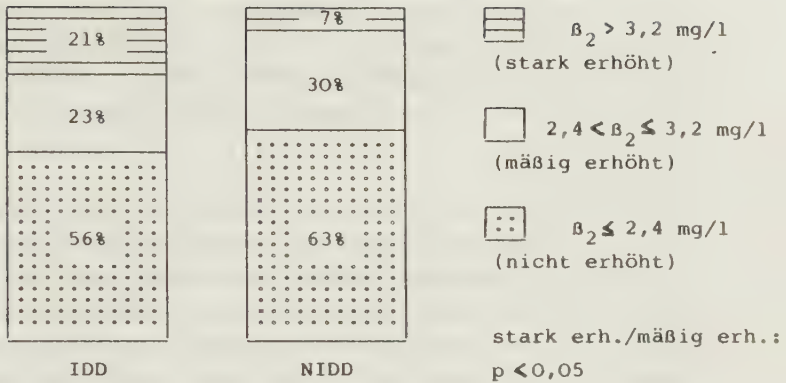


Abb. 12: Verteilung der β_2 -MG-Serumspiegel (β_2) bei IDD- und bei NIDD-Patienten.

Proteinurie (mg/die)

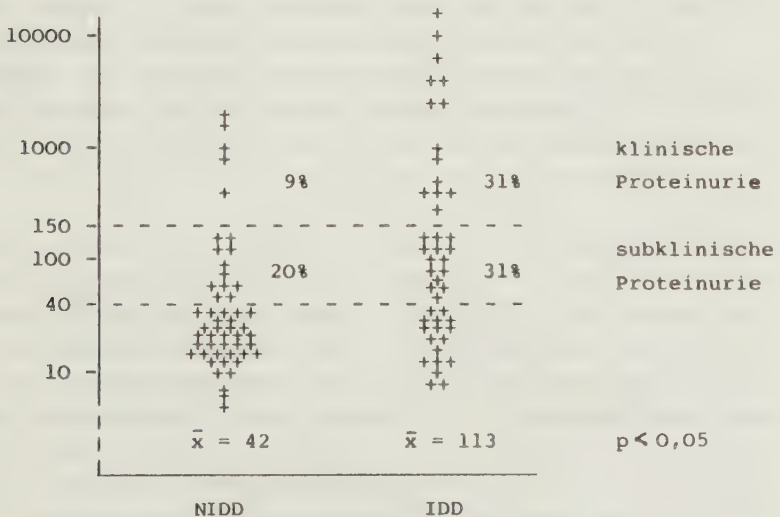


Abb. 13: Verteilung des Ausmaßes der Proteinurie bei IDD- und bei NIDD-Patienten (logarithmischer Maßstab).

Fälle eine pathologische Proteinurie (> 40 mg/die), in 31% der Fälle liegt sie über 150 mg/die. Auch diese Andersverteilung ist statistisch signifikant ($p < 0,02$). Insgesamt fanden wir für die Proteinurie Werte zwischen 5 und 2200 mg/die bei den NIDD-Patienten sowie zwischen 8 und 11800 mg/die bei den IDD-Patienten.

Die Grenze von 150 mg/die hat insofern auch klinische Bedeutung, da sie sich in etwa mit der Nachweisgrenze der üblicherweise verwendeten Labormethoden deckt (z.B. 100 mg/l für Albustix^R bei 1,5 l Urinmenge täglich). Anhand dieser Ergebnisse kann man also feststellen, daß bei den Typ I-Diabetikern etwa die Hälfte, bei den Typ II-Diabetikern sogar 2/3 der Fälle mit pathologischer Proteinurie mit diesen Methoden übersehen werden.

Auch die Verteilung der einzelnen Retinopathiestadien auf die beiden Diabetestypen zeigt bei der IDD-Gruppe häufiger schwere Augenhintergrundsveränderungen als in der NIDD-Gruppe. Während bei der letzteren nur in 31% der Fälle eine Retinopathia diabetica vorlag, und hiervon wiederum 3/5 auf das Stadium II entfielen, fanden wir bei 61% der insulinpflichtigen Diabetiker eine Retinopathie, welche in mehr als der Hälfte der Fälle bereits proliferativ war. Diese Umverteilung ist statistisch signifikant auf dem 5%-Niveau.

Ebenfalls signifikant unterscheiden sich die mittleren HbA_1 -Spiegel in den beiden Gruppen ($p < 5\%$). Offensichtlich auch als Zeichen der schlechteren Einstellung bzw. Einstellbarkeit des Stoffwechsels bei insulinpflichtigem Diabetes mellitus wies diese Gruppe mit $11,7 \pm 1,6\%$ gegenüber $10,8 \pm 1,8\%$ einen deutlich höheren HbA_1 -Anteil als die NIDD-Patienten auf.

Da die IDD-Patienten im Mittel jünger sind und eine längere Diabetesdauer als die NIDD-Patienten aufweisen, war es auch hier notwendig, die statistische Auswertung vergleichsweise an "angeglichenen Kollektiven" durchzuführen. Wie bereits im

	NIDD	IDD	Signifikanz
β_2 -MG in mg/l	$2,32 \pm 0,88$ ($2,17 \pm 0,77$)	$2,78 \pm 1,61$ ($2,75 \pm 1,49$)	keine (keine)
PU (log) in mg/die	42 (38)	113 (107)	$p < 0,05$ ($p < 0,05$)
HbA ₁ in %	$10,8 \pm 1,8$ ($11,2 \pm 1,9$)	$11,7 \pm 1,6$ ($11,6 \pm 1,6$)	$p < 0,05$ (keine)
RD I	69% (72%)	39% (47%)	RD I / RD II - IV: $p < 0,01$ ($p < 0,01$)
RD II	19% (17%)	28% (22%)	
RD III/IV	12% (11%)	33% (31%)	RD II / RD III, IV: $p < 0,05$ ($p < 0,05$)
Diabetesdauer in Jahren	$11,0 \pm 7,2$ ($13,2 \pm 6,8$)	$16,2 \pm 8,0$ ($13,6 \pm 7,5$)	$p < 0,01$ (keine)
Alter in Jahren	$64,4 \pm 14,1$ ($59,8 \pm 12,5$)	$53,1 \pm 16,9$ ($58,0 \pm 14,3$)	$p < 0,01$ (keine)

Tab. 4: Diabetiker mit nicht insulinabhängigem (NIDD) und insulinabhängigem (IDD) Diabetes mellitus: Mittelwerte für Serum- β_2 -MG (β_2 -MG), Eiweißausscheidung (PU; logarithmisches Mittel, daher keine Standardabweichung) und HbA₁ sowie prozentualer Anteil der Patienten mit den verschiedenen Retinopathiestadien (RD); weiters Mittelwerte von Diabetesdauer und Alter innerhalb dieser beiden Gruppen. In Klammern jeweils die entsprechenden Werte bzw. Signifikanzen bei Auswertung der "angeglichenen" Kollektive (siehe Text).

vorhergehenden Abschnitt ausgeführt, entstehen diese Kollektive durch Streichung einzelner Patienten aus der Auswertung mit dem Ziel, zwei hinsichtlich Alter und Krankheitsdauer vergleichbare Gruppen zu erhalten. Andere Parameter wurden dabei nicht berücksichtigt.

Wie Tab. 4 zeigt, verändert dies die Ergebnisse bezüglich der Mikroangiopathieparameter nur graduell. So ergaben sich in den "angeglichenen" Kollektiven mittlere β_2 -MG-Spiegel von 2,75 mg/l (IDD) und 2,17 mg/l (NIDD) gegenüber 2,78 und 2,32 mg/l im Gesamtkollektiv. Auch die Proteinurie unterschied sich nach wie vor deutlich mit 107 mg/die (IDD) gegenüber 38 mg/die (NIDD) auf dem 5%-Niveau. Ebenso unverändert ist das Ergebnis beim Vergleich Retinopathie - Diabetestyp. Nicht mehr signifikant war jedoch die in den angeglichenen Kollektiven auf 0,4% (11,6% in der IDD- bzw. 11,2% in der NIDD-Gruppe) geschrumpfte Differenz im mittleren HbA_{1c} -Anteil.

6) HYPERTONIE

Ein länger bestehender Hypertonus vermag sowohl die Entwicklung einer diabetischen Nephropathie beschleunigen (41), als auch unabhängig vom Diabetes selbst zu Einschränkungen der Nierenfunktion führen. Umgekehrt kann eine bereits vorhandene Glomerulosklerose die Entstehung einer Hypertonie begünstigen. Die Nierenveränderungen bei Bluthochdruck unterscheiden sich zwar pathogenetisch und histologisch grundlegend von denen bei der diabetischen Nephropathie, nichtsdestoweniger können sie klinisch ebenso durch GFR-Reduktion und - milde - Proteinurie in Erscheinung treten. Gerade deswegen ist es wichtig, den Faktor "Hypertonie" bei der Beurteilung der bisherigen Ergebnisse zu berücksichtigen. Wie bereits eingangs erwähnt, werden als Hypertoniker Patienten mit einem Blutdruck von unbehandelt über 160 mm Hg systolisch und/oder 95 mm Hg diastolisch verstanden.

Der Anteil der Hypertoniker am Gesamtkollektiv betrug 52%. Während die mittlere Diabetesdauer bei Hyper- und Normotonikern mit 13,5 bzw. 13,3 Jahren praktisch identisch ist, unterscheiden sich die beiden Gruppen signifikant ($p < 0,05$) hinsichtlich des Durchschnittsalters: Es beträgt $63,0 \pm 13,8$ Jahre beim Hypertoniker und $51,7 \pm 16,1$ Jahre beim Normotoniker (jeweils $\bar{x} \pm s$). Diese Altersverteilung, welche in ihrer Tendenz aufgrund der im Alter bekanntermaßen steigenden Prävalenz der Hypertonie ohnehin zu erwarten war, ist sicherlich mit ein Grund dafür, daß der Anteil der Hypertoniker mit 66% bei den NIDD-Patienten deutlich über dem der IDD-Patienten mit 35% lag ($p < 0,002$). Bei den weiter oben beschriebenen "angeglichenen" Kollektiven fanden sich dann auch nur noch 53% Hypertoniker in der NIDD-Gruppe gegenüber 43% in der IDD-Gruppe (keine Signifikanz).

Ohne weiter auf Ursache und Wirkung einzugehen, kann festgestellt werden, daß mehr Hyper- als Normotoniker unter den niereninsuffizienten Patienten sind. Der β_2 -MG-Serumspiegel liegt bei Hypertonikern im Mittel bei $2,75 \pm 1,55$ mg/l und damit signifikant ($p < 0,01$) über dem der Diabetiker mit normalem Blutdruck ($2,13 \pm 0,64$ mg/l). Ähnlich verhalten sich die Kreatininwerte ($p < 0,05$).

Beim Ausmaß der Proteinurie bestehen jedoch überraschenderweise andere Verhältnisse: Dieses ist in beiden Gruppen mit 67 mg/die (Hypertoniker) respektive 60 mg/die (Normotoniker - jeweils logarithmische Mittel) praktisch gleich. Paradoxerweise haben sogar mit 52% mehr Normotoniker eine pathologische Eiweißausscheidung (> 40 mg/die) als Hypertoniker (36%). Diese Unterschiede in der Verteilung sind jedoch statistisch nicht signifikant.

7) VERLAUFSKONTROLLE

Wie bereits erläutert, konnten wir bei 55 Patienten den β_2 -MG-Spiegel und das Kreatinin im Serum, das Ausmaß der Proteinurie sowie teilweise auch den Grad der Retinopathie über einen Zeitraum von 12 - 24 Monaten verfolgen. Für die Beurteilung des Verlaufs des β_2 -MG im Serum setzten wir nun eine Schwankungsbreite des bei der Kontrolle bestimmten Werts von $\pm 16\%$ zum Ausgangswert als "Indifferenzbereich" an. Liegt der Kontrollwert außerhalb dieses Bereichs, so kann bei dem gegebenen Interassay-VK von 8,2% angenommen werden, daß bei diesem Patienten eine signifikante ($p < 0,05$) Änderung des β_2 -MG-Spiegels im Serum während des Beobachtungszeitraums stattgefunden hat. Mit dieser Einstufung fanden wir:

8 Patienten, das sind 15%, mit "gefallenen",

39 Patienten, das sind 70%, mit "gleichgebliebenen" und

8 Patienten, das sind 15% mit "gestiegenen"

β_2 -MG-Werten.

Tab. 5 zeigt eine Zusammenstellung aller erfaßten Diabetiker mit nach dieser Festlegung gefallenem β_2 -MG-Werten. Diese bewegten sich in 5 Fällen dabei innerhalb des Normbereichs, bei 2 Patienten (Nr. 4 und 8) war ein Rückgang von pathologischen zu normalen Werten zu verzeichnen und bei einem eine Änderung innerhalb des pathologischen Bereichs (Nr. 3). Zwei der Patienten (Nr. 3 und 8) zeigten eine pathologische Proteinurie, welche sich innerhalb des Beobachtungszeitraums nicht veränderte. Eine entsprechende Änderung anderer, den Verlauf der Mikroangiopathie dokumentierender Parameter fand ebenfalls bei keinem der 8 Patienten statt, sodaß man hier wohl am ehesten geringe Schwankungen der GFR ohne diabetesspezifische Bedeutung annehmen muß. Auch die Verteilung der anderen krankheitsbezogenen Parameter einschließlich des Anteils der Patienten mit Hypertonie zeigte in der Gruppe der Patienten mit gefallenem β_2 -MG im Vergleich zum Gesamtkollektiv keine Auffälligkeiten.

Patient	A	DD	RD	HT	Typ	β_2 -MG	Krea	PU
1. A.B.	62	20	I	-	IDD	2,4 → 1,9	0,9	8
2. M.E.	56	3	II	+	NIDD	2,3 → 1,8	1,15 → 1,2	19 → 12
3. W.F.	58	5	I	-	IDD	3,3 → 2,7	1,4	1100
4. T.G.	77	16	I	+	NIDD	2,6 → 2,0	1,0	7 → 24
5. A.M.	66	21	II	+	IDD	1,9 → 1,5	0,85 → 0,8	25
6. H.S.	36	20	III	+	IDD	2,4 → 2,0	0,9 → 1,1	35 → 22
7. H.S.	43	36	IV	+	IDD	1,7 → 1,4	0,9 → 0,85	30 → 20
8. M.V.	63	2	I	-	NIDD	2,5 → 2,1	1,1 → 1,3	50

Tab. 5: Übersicht über die Diabetiker mit gefallenem Serum- β_2 -MG. A = Alter in Jahren. DD = Diabetesdauer in Jahren. RD = Grad der Retinopathie. HT = Hypertonie. Typ = Diabetestyp. β_2 -MG = Serum- β_2 -MG in mg/l. Krea = Serumkreatinin in mg/dl. PU = Proteinurie in mg/die. → bedeutet Veränderung vom 1. zum 2. Wert innerhalb des Beobachtungszeitraums. Ist nur ein Wert angegeben, so hatte sich dieser nicht signifikant verändert.

Patient	A	DD	RD	HT	Typ	β_2 -MG	Krea	PU
1. R.E.	48	20	II	+	NIDD	3,9 → 4,9	1,8	11800
2. M.G.	78	16	II	+	NIDD	1,9 → 2,4	1,0	14
3. U.G.	68	16	II → III	+	IDD	2,0 → 2,7	1,1 → 1,0	140 → 2700
4. T.M.	70	12	I	+	NIDD	2,1 → 2,75	0,9 → 1,2	35 → 125
5. K.R.	62	16	II	+	IDD	2,0 → 3,3	1,05	25 → 35
6. J.S.	62	12	II	-	IDD	2,4 → 3,0	0,9	275 → 550
7. W.S.	57	32	III	-	IDD	2,3 → 3,1	1,1	70
8. L.W.	69	13	I	-	IDD	2,2 → 3,5	1,05 - 1,3	25 → 65

Tab. 6: Übersicht über die Diabetiker mit gestiegenem Serum- β_2 -MG. Zeichenerklärung siehe oben.

Eine Übersicht über die Diabetiker mit angestiegenen β_2 -MG-Werten zeigt Tab. 6. Unter diesen 8 Patienten fanden sich 6, bei denen der Anstieg des β_2 -MG von zunächst normalen zu erhöhten Werten erfolgte (Nr. 3, 4, 5, 6, 7 und 8). Bei je einem Patienten fand die Bewegung innerhalb des Normbereichs bzw. innerhalb des pathologischen Bereichs statt. Unter den vorhin genannten 6 Patienten findet sich keiner mit einem Anstieg des Serumkreatinins in den pathologischen Bereich, sodaß man nach den bereits gewonnenen Erkenntnissen hierbei eine Filtratabnahme im "kreatininblinden" Bereich als mögliches Zeichen einer beginnenden diabetischen Nephropathie annehmen kann. Erhärtet wird diese Vermutung durch die Tatsache, daß bei 5 der 6 Diabetiker entweder bereits eine pathologische Proteinurie bestand oder sich parallel mit dem Anstieg des β_2 -MG während des Beobachtungszeitraums entwickelt hat.

Insgesamt bestand bei 6 der 8 Diabetiker mit gestiegenem β_2 -MG, das sind 75%, zu Ende des Kontrollzeitraums eine Proteinurie von über 40 mg/die, bei den Diabetikern mit gefallen oder unverändert gebliebenen Werten jedoch nur in 33% der Fälle. Ebenso hatten 6 der Patienten (=75%) eine diabetische Retinopathie Grad II - IV, was nur für 30% der übrigen Patienten in der Verlaufskontrolle zutraf. Diese auffallenden Unterschiede sind auf dem 5%- bzw. 2%-Niveau signifikant (Abb. 15).

Bei dem Pat. Nr. 3 fand neben dem Anstieg der Proteinurie von zuvor 140 mg/die auf 2700 mg/die auch eine massive Verschlechterung der diabetischen Retinopathie während des Kontrollzeitraums statt: War die Retinopathie zu Beginn der Untersuchungen noch im Stadium II, so veränderte sich der Befund innerhalb von 18 Monaten auf das Stadium III (-IV). Auch hier lag das Kreatinin mit 1,1 mg/dl noch im Normbereich.

Weitere statistisch signifikante Unterschiede zwischen der Gruppe der Diabetiker mit angestiegenen Kontrollwerten und dem Gesamtkollektiv bzw. dem Rest des Gesamtkollektivs ließen

sich nicht feststellen. Insbesondere entspricht der Anteil der Hypertoniker mit 5 von 8 Patienten mit β_2 -MG-Anstieg bzw. 3 von 6 Patienten mit β_2 -Anstieg und Proteinurie dem im Gesamtkollektiv.

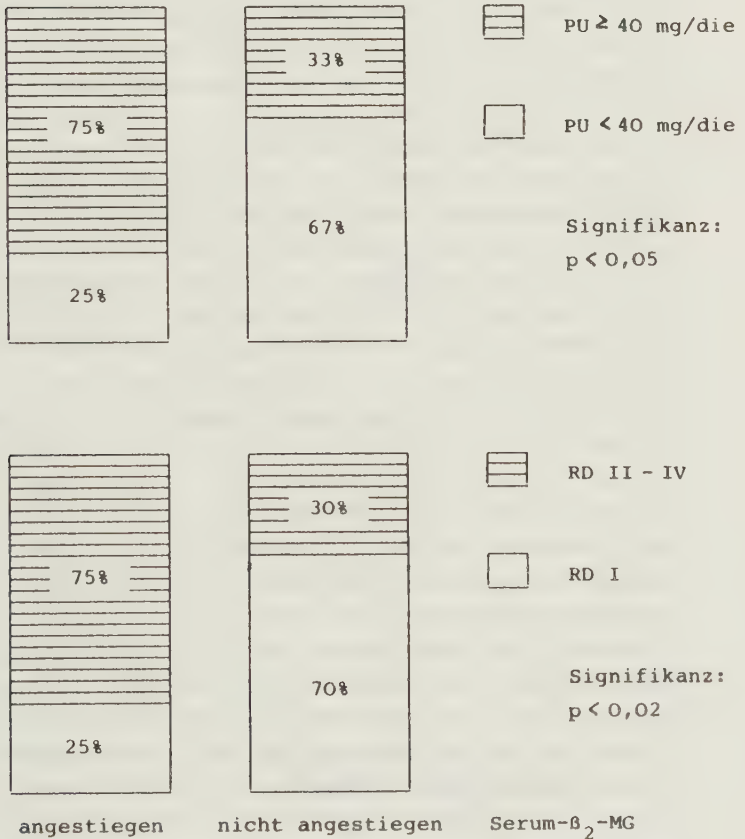


Abb. 15: Patienten der Verlaufskontrolle mit angestiegenem und nicht angestiegenem (siehe Text) Serum- β_2 -MG. Häufigkeit einer Retinopathie (RD) bzw. einer pathologischen Proteinurie (PU) von über 40 mg/die in diesen beiden Gruppen.

IV) DISKUSSION

1) BETA_2 -MIKROGLOBULIN ALS PARAMETER DER NIERENFUNKTION

Die Eigenschaften des β_2 -MG bzw. dessen Schicksal im Organismus lassen bereits erwarten, daß seine Bestimmung in Seren und Urinen sich zur Kontrolle der Nierenfunktion nicht nur beim Diabetiker eignen. Das Spurenprotein wird ohne tageszeitliche Schwankungen und unabhängig von der Nahrungsaufnahme konstant im Organismus gebildet (61), eine Sexotropie konnte hierbei nicht nachgewiesen werden. Bei dem ansonsten in der Routine bestimmten Serumkreatinin ist hingegen eine Abhängigkeit von Geschlecht und Muskelmasse (23) sowie eine passagere Erhöhung nach proteinreichen Mahlzeiten bekannt (26). Der Abbau erfolgt ausschließlich über die Niere durch glomeruläre Filtration und (bei normalen oder gering erhöhten Serumspiegeln) quantitativ Reabsorption im proximalen Tubulus. Für Nierengesunde errechneten wir hierbei einen mittleren Umsatz von 325 mg / die / $1,73 \text{ m}^2 \text{ KO}$.

Die Bestimmung des Serum β_2 -MG kann ohne erkennbare Differenzen sowohl aus venösem wie auch aus Kapillarblut vorgenommen werden (61). Die Serumproben können ohne meßbare Verluste bei $+4^\circ\text{C}$ über 24h, bei -20°C mindestens 2 Monate aufbewahrt werden (46, 61). Dasselbe gilt im Prinzip auch für Urine, aufgrund der Instabilität des Proteins bei $\text{pH} < 6$ müssen diese jedoch vor der Aufbewahrung z.B. mit 1N NaOH auf einen $\text{pH} \geq 6$ alkalisiert werden (17, 46).

Aufgrund der konstanten Produktion und ausschließlich glomerulären Elimination spiegeln erhöhte Serumwerte für β_2 -MG eine Einschränkung des Glomerulumfiltrats wider. Davon abzugrenzen sind natürlich Erkrankungen, bei denen - meist infolge eines erhöhten Zellumsatzes - erhöhte β_2 -MG-Spiegel ohnehin zu er-

warten sind. So kommt es z.B. bei chronisch entzündlichen Erkrankungen wie Morbus Crohn (14) oder rheumatoider Arthritis (33) oder bei malignen Prozessen wie Lymphomen und Karzinomen (2, 47) regelmäßig zu einem Anstieg des Serumspiegels des Proteins. β_2 -MG eignet sich in solchen Fällen als Indikator für die Krankheitsaktivität (7). Bei unseren Untersuchungen wurden daher sämtliche Patienten mit entsprechenden Begleiterkrankungen oder auch nur Hinweisen hierfür ausgeschlossen.

Zur Frage der Aussagefähigkeit des Serum- β_2 -MG im Vergleich zum Serumkreatinin, der endogenen Kreatininclearance und zur mittels ^{51}Cr -EDTA oder Inulin präzise bestimmten GFR wurden bereits mehrere Arbeiten veröffentlicht (4, 9, 59). Die Autoren stellten darin übereinstimmend fest, daß das Serum- β_2 -MG bedeutend enger mit der GFR korreliert als das Serumkreatinin. Während letzteres erst eine Filtratabnahme um mehr als 50% zuverlässig anzeigt, sei die Zahl der falsch negativen Ergebnisse bei der Verwendung von β_2 -MG zur Erfassung einer beginnenden Niereninsuffizienz sehr viel geringer. So fanden Wibell et al. (65) bei 12 Diabetikern mit geringgradig eingeschränkter GFR (Inulinclearance 35 - 85 ml/min/1,73m² KO) in allen Fällen einen pathologischen β_2 -MG-Serumspiegel, dagegen nur in 5 Fällen eine gleichzeitige Erhöhung des Serumkreatinins. Kult et al. (30) ermittelten eine enge Korrelation mit $r = -0,94$ zwischen Serum- β_2 -MG und der im Slope-Verfahren bestimmten ^{51}Cr -EDTA-Clearance. Sie bestätigten, daß β_2 -MG bereits auf geringfügige Schwankungen der GFR reagiert und auch im sogenannten kreatininblinden Bereich zuverlässige Aussagen ermöglicht. Viberti et al. (61) fanden schließlich, daß die Methode, was die Korrelation zur GFR angeht, sogar der Bestimmung der endogenen Kreatininclearance überlegen ist. Sie schlugen daher vor, die β_2 -MG-Bestimmung routinemäßig zur Überwachung der Nierenfunktion bei Diabetikern einzusetzen.

Dies alles deckt sich im Wesentlichen auch mit unseren Ergebnissen. Bei unseren Kontrollpersonen konnten wir eine enge

Korrelation mit $r = -0,94$ zwischen Serum- β_2 -MG und der endogenen Kreatininclearance nachweisen, während letztere und das Serumkreatinin lediglich mit $r = -0,84$ korrelierten. Die vergleichsweise Bestimmung der ^{51}Cr -EDTA-Clearance war uns technisch leider nicht möglich. Kein einziger der von uns untersuchten Diabetiker mit erhöhtem Serumkreatinin ($> 1,3 \text{ mg/dl}$) wies normale β_2 -MG-Spiegel auf, dagegen bestanden bei nahezu 2/3 der Patienten mit erhöhtem β_2 -MG ($> 2,4 \text{ mg/l}$) noch normale Kreatininwerte, was auf eine geringgradige, vom Kreatinin noch nicht erfaßte Niereninsuffizienz schließen läßt. Der hierbei verwendete, von verschiedenen Autoren vorgeschlagene Normalbereich für β_2 -MG im Serum von $0,8 - 2,4 \text{ mg/l}$ (17, 30, 46) konnte dabei von uns bestätigt werden.

Auch unter Berücksichtigung der Annahme, daß die Normalwerte für β_2 -MG im Serum im Alter physiologischerweise etwas höher liegen, verändern sich unsere Ergebnisse nicht wesentlich. Der Hersteller des verwendeten β_2 -MG-RIA-Kits, die Firma Pharmacia, Freiburg, schlug hierzu zuletzt die Einführung eines modifizierten Normalbereiches vor, welcher von $\leq 2,0 \text{ mg/l}$ für unter 40-jährige bis $\leq 3,1 \text{ mg/l}$ für über 60-jährige reicht (46). Inwieweit dies angesichts der Tatsache, daß die GFR im Alter ohnehin abnimmt, gerechtfertigt ist, können wir anhand unserer Untersuchungen nicht beurteilen. An der anerkannten engen Korrelation des Serum- β_2 -MG zur GFR ändert dies natürlich nichts. Und selbst wenn man unbeachtet ließe, daß dann ja auch für das Serumkreatinin bzw. die endogene Kreatininclearance im Alter ebenfalls modifizierte Normalwerte anzugeben wären, hätten dann noch immer 55% der Patienten mit erhöhtem β_2 -MG ein unauffälliges Serumkreatinin. Auch dies unterstreicht eindrucksvoll die hohe Sensitivität der β_2 -MG-Bestimmung im Serum zur Erfassung einer beginnenden Niereninsuffizienz jedweder Genese.

Im Gegensatz zum Serum- β_2 -MG reflektiert die β_2 -MG-Ausscheidung im Urin sehr empfindlich Störungen der tubulären Funktion. Wenn man bedenkt, daß bei einem Tagesumsatz von ca. 325 mg/die

(siehe oben) ein Nierengesunder weniger als 370 $\mu\text{g}/\text{die}$ $\beta_2\text{-MG}$ im Urin ausscheidet (46), somit also 99,9% des Proteins aus dem Primärharn reabsorbiert und metabolisiert, wird klar, daß beispielsweise ein Funktionsausfall von 1% der Tubuli bereits eine Vermehrung der $\beta_2\text{-MG}$ -Ausscheidung auf das 10-fache zur Folge hat. So machen sich tubulär-interstitielle Erkrankungen und Schädigungen wie die endemische Balkanephritis (22), Cadmium-, Blei- oder Quecksilberintoxikationen (49) aber auch z.B. eine Pyelonephritis (52) frühzeitig durch einen Anstieg des $\beta_2\text{-MG}$ im Urin bemerkbar. Aufgrund der vorwiegend glomerulären Komponente der diabetischen Nierenschädigung erwies sich daher diese Bestimmung zur Früherkennung einer diabetischen Nephropathie als wenig nützlich. Wir fanden lediglich bei Patienten mit höhergradig vermehrtem $\beta_2\text{-MG}$ im Serum und ebenfalls bereits erhöhtem Serumkreatinin pathologische Werte, welche wohl auf ein Überschreiten der tubulären Reabsorptionskapazität zurückzuführen sind (59). Die Grenze hierfür bestimmten wir bei einer Serumkonzentration von ca. 5mg/l, was sich mit bereits veröffentlichten Werten deckt (59).

2) MANIFESTATION DER DIABETISCHEN NEPHROPATHIE

Der erste morphologisch faßbare Befund an der Niere beim Einsetzen des Diabetes ist die Zunahme der Glomerulumgröße und damit der Filtrationsfläche (42). Damit geht klinischerseits eine Erhöhung der glomerulären Filtrationsrate einher (39); die Ursache für diese Entwicklung ist noch unklar. Etwa zwei Jahre nach Krankheitsbeginn stellt sich dann eine langsam und kontinuierlich zunehmende Verbreiterung der Basalmembranen am Glomerulum ein, welche von einer Zunahme des Mesangiumvolumens gefolgt ist (40). Daneben konnte auch eine verstärkte Ablagerung von C_3 und IgG am Glomerulum nachgewiesen werden (50). Das Resultat ist das, was wir unter dem Terminus: diffuse (diabetische) Glomerulosklerose zusammenfassen. Die Basalmembran kann später das bis zu 10-fache der normalen Dicke er-

reichen (50). Klinisch machen sich diese Veränderungen nun in einer zunehmenden Verringerung der GFR sowie einer Proteinurie bemerkbar. Wieso dabei die verdickte Basalmembran am Glomerulum mehr und nicht, wie man erwarten möchte, weniger Proteine passieren läßt, ist noch nicht befriedigend zu erklären.

Sämtliche Stufen dieser Entwicklung ließen sich auch im Tierversuch mit experimentell induziertem Diabetes beobachten (35). Es zeigte sich dabei, daß eine Kontrolle der diabetischen Stoffwechsellage durch Inselzelltransplantation oder Insulintherapie die Nierenveränderungen im Frühstadium rückgängig machte (20, 34), was als Indiz für die metabolische Genese der diabetischen Nephropathie zu werten ist. Ein bestehender oder auch im Rahmen des Diabetes entstandener Bluthochdruck beschleunigt die Entstehung der beschriebenen Veränderungen. Dies konnte zunächst ebenfalls tierexperimentell in Versuchen mit künstlich ausgelöstem Hypertonus nachgewiesen werden (36). Später kamen unter anderem Mogensen et al. (41) in Untersuchungen an insulinpflichtigen Diabetikern zu dem Ergebnis, daß die Progredienz der frühen diabetischen Veränderungen an der Niere durch eine sorgfältige Einstellung sowohl des Diabetes als auch eines eventuell vorhandenen Hypertonus verzögert werden kann. Gerade weil beim Diabetiker das Risiko eines Bluthochdrucks höher ist als beim Stoffwechselgesunden, verdient dies Beachtung.

Im Allgemeinen wird das Auftreten einer Proteinurie als das erste klinische Zeichen einer beginnenden Nephropathie angesehen (37, 38). Viberti et al. (63) betonen hierbei die Bedeutung des Nachweises auch der "Mikroproteinurie". Sie geben an, daß Diabetiker mit einer Eiweißausscheidung von weniger als 30 µg/min (entsprechend 43 mg/die) ein weit geringeres Risiko haben, eine klinisch signifikante Nephropathie zu entwickeln als Patienten mit höheren Werten. Dies unterstreicht auch die Bedeutung unseres Ergebnisses, daß der Nachweis von Eiweiß im Urin mit herkömmlichen Methoden wie z.B. Albustix^R einen Großteil der Diabetiker mit einer bereits pathologischen Protein-

urie im Bereich von 40 bis etwa 150 mg/die überhaupt nicht erfaßt. So fanden wir in unserem Patientenkollektiv 26% Patienten mit einer Eiweißausscheidung von über 40 aber unter 150 mg/die, jedoch nur 19% mit 150 mg/die oder mehr.

Für die Annahme, daß die (Mikro-) Proteinurie der Einschränkung des Glomerulumfiltrats vorausgeht, spräche auch das Ergebnis unserer Verlaufsstudie. Denn unter den Diabetikern mit - als Zeichen einer beginnenden Verringerung der GFR - während des Beobachtungszeitraums angestiegenem Serum- β_2 -MG fanden sich signifikant mehr Patienten mit Proteinurie als unter dem Rest des Kollektivs. Andererseits beobachteten wir neben den 17 Diabetikern mit pathologischer Proteinurie und normalem β_2 -MG auch 13 Patienten mit unauffälliger Eiweißausscheidung aber zum Teil schon deutlich eingeschränkter Nierenfunktion. Der höchste, bei einem Diabetiker ohne pathologische Proteinurie gefundene β_2 -MG-Spiegel betrug 3,9 mg/l (Kreatinin 1,7 mg/dl). Dieser (nicht insulinabhängige) Patient hatte einen leichten, medikamentös gut eingestellten Hypertonus sowie eine proliferierende Retinopathie, was eine diabetische Genese der Niereninsuffizienz wahrscheinlich macht.

Ähnliche Ergebnisse fanden auch Kussmann et al. (31) in einer Studie an 112 Diabetikern, welche beim ersten konstanten Auftreten einer Proteinurie ein mittleres Serumkreatinin von $1,2 \pm 0,3$ mg/dl hatten. Dies impliziert ebenfalls, daß sich bei einem Teil der Diabetiker die diabetische Nephropathie zuerst in einer - geringen - Einschränkung der GFR und dann später erst in einer Proteinurie manifestiert. Auch wenn ohne eine biopsische Untersuchung der definitive Nachweis einer diabetischen Glomerulosklerose nicht möglich ist, so halten wir diese bei den genannten 13 Patienten doch für wahrscheinlich, zumal andere Ursachen für die Nierenschädigung nicht erkennbar waren. Es bestand zwar bei diesen Patienten häufiger als im Gesamtkollektiv eine Hypertonie, diese war jedoch aus den bekannten Gründen in jedem Fall optimal eingestellt. Gleichzeitig fanden wir im Übrigen auch bei 7 der 13 Patienten

eine bereits bestehende Retinopathie als Hinweis für eine diabetische Mikroangiopathie auch an der Niere. Bei der Gruppe der Patienten mit normalem β_2 -MG und pathologischer Proteinurie traf dies nur in 6 von 17 Fällen zu.

Beim Vergleich der Nephropathieparameter mit der Diabeteseseinstellung - letztere gemessen am mittleren HbA_{1c} der vergangenen zwei Jahre - zeigte sich auch nach Angleichung der Kollektive bezüglich Alter und Diabetesdauer ein signifikanter ($p < 0,02$) Zusammenhang zwischen β_2 -MG im Serum und den HbA_{1c} -Werten. Bei der Proteinurie und beim Serumkreatinin fanden sich hingegen keine signifikanten Differenzen. Auch dies kann man als Hinweis dafür verstehen, wie empfindlich die GFR bzw. das β_2 -MG den Beginn und die Entwicklung einer diabetischen Glomerulosklerose reflektiert.

Es wäre natürlich ebenso denkbar, daß bei allen Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion ohne Nachweis einer Proteinurie sehr wohl bereits eine intermittierende Proteinurie bestanden hat, welche jedoch bei den durch uns durchgeführten Stichproben nicht entdeckt wurde. So beschreiben Viberti et al. (62) die Provozierbarkeit der Mikroalbuminurie durch körperliche Belastung, welche im Übrigen nach konsequent optimaler Stoffwechseleinstellung wieder sistiert. Auch andere Veröffentlichungen zeigen auf (39, 60), daß im Anfangsstadium der Glomerulosklerose die Proteinurie oft inkonstant ist. Anhand der von uns gewonnenen Ergebnisse sind jedoch weitergehende Aussagen über diesen Sachverhalt nicht möglich, insbesondere auch da nur ein Teil der oben erwähnten 13 Diabetiker in unserer Verlaufsstudie erfaßt werden konnte, sodaß keine statistisch ausreichende Fallzahl erreicht werden konnte.

Zusammenfassend kann jedoch in jedem Fall festgestellt werden, daß gerade bei Screeninguntersuchungen die Bestimmung des β_2 -MG im Serum neben der Erfassung der (Mikro-) Proteinurie als ein wertvolles Hilfsmittel zur einfachen Früherkennung der diabetischen Nephropathie anzusehen ist. Denn offensichtlich

besteht auch die Möglichkeit, daß sich diese noch vor einer vermehrten Eiweißausscheidung durch eine Abnahme der GFR ankündigt.

3) VERLAUF DER NEPHROPATHIE

Deckert et al. (12) beschreiben, daß, obwohl in fast allen Typ I-Diabetikern histologische Zeichen einer Glomerulosklerose bestehen, nur etwa 35% davon auch die klinischen Zeichen der diabetischen Nephropathie entwickeln. Ist es jedoch erst einmal zu einer klinisch relevanten Nierenfunktionsstörung mit Kreatininanstieg und Albustix^R-positiver Proteinurie gekommen, so entwickelt der Prozeß eine Eigendynamik. Das Fortschreiten der Nephropathie ist dann auch durch eine korrekte Blutzucker- und Bluthochdruckeinstellung kaum mehr aufzuhalten (64). Die weitere Prognose ist denkbar schlecht: ohne Hämodialyse bzw. Nierentransplantation beträgt die mittlere Überlebensdauer zu diesem Zeitpunkt noch 7 Jahre (24). In den von ihnen untersuchten Kollektiven von Typ I-Diabetikern führen Kussmann et al. (31) bzw. Entmacher et al. (16) 59 bzw. 50% der Todesfälle direkt oder indirekt auf die Nephropathie zurück. All diese Angaben unterstreichen, wie wichtig die geforderte Früherkennung der Nierenveränderungen ist.

Neben oder öfter noch vor der Nephropathie entwickelt sich in der Regel eine diabetische Retinopathie. Sie ist beim Typ I-Diabetiker im Mittel nach 20 Jahren so weit fortgeschritten, daß ohne Behandlung ein akuter Verlust der Sehkraft droht (19). Unter Verwendung des β_2 -MG als Maßstab der Nierenfunktion konnten wir auch an unserem Gesamtkollektiv (IDD + NIDD) eine Parallelentwicklung der beiden Folgeerkrankungen nachweisen. So zeigten die mittleren Serum- β_2 -MG-Spiegel der Patienten mit den Retinopathiestadien I, II und III/IV jeweils signifikante Unterschiede; beim Serumkreatinin war dies nicht der Fall.

Das Ausmaß der Proteinurie differierte bei unseren Diabetikern kaum zwischen den Gruppen I und II, jedoch signifikant zwischen II und III/IV. Auch dies ist ein Hinweis darauf, daß die Proteinurie nicht immer das erste Zeichen der diabetischen Nephropathie ist. Darüberhinaus zeigen diese Ergebnisse, daß auch bei bereits eingeschränkter GFR das Serum- β_2 -MG die Progredienz der Mikroangiopathie an der Niere exakter als das Kreatinin widerspiegelt.

Interessant erscheint auch die prozentuale Verteilung der Fälle mit "latenter" bzw. "manifeste" Niereninsuffizienz bezogen auf das Stadium der Mikroangiopathie am Auge (Abb. 9). Hier nimmt mit stärkeren Fundusveränderungen zwar, wie erwartet, die Häufigkeit der Niereninsuffizienz zu, es verbleiben jedoch noch 32% Patienten ohne auch nur latente Niereninsuffizienz bei proliferativer Retinopathie. Einer dieser Patienten hatte überraschenderweise sogar die Retinopathie (Stadium III) entwickelt, obwohl bei ihm nur ein subklinischer Diabetes mellitus zu diagnostizieren war. Dies alles deutet an, daß nicht grundsätzlich alle Diabetiker eine Nephropathie bekommen, wenn sie nur lange genug erkrankt sind bzw. der Diabetes, was die am Auge sichtbare Mikroangiopathie angeht, "aggressiv" genug ist. So stellten auch Takazakura et al. (57) in einer prospektiven Studie an 162 Diabetikern fest, daß die Diabetesdauer allein für die Entstehung der Nephropathie kaum entscheidend ist; die Altersverteilung der Serum- β_2 -MG-Spiegel bestätigt dies ebenfalls (Abb. 11). Tatsächlich bleiben ja manche Patienten noch nach einer Diabetesdauer von 40 Jahren von einem Nierenschaden verschont (43), ohne daß bisher theoretisch postulierte Schutzfaktoren nachgewiesen werden konnten.

Die inzwischen allgemein anerkannte Feststellung (34, 39, 41) 62), daß eine gute Stoffwechseleinstellung das Auftreten diabetischer Folgeschäden zumindest verzögert, konnten auch wir bestätigen. So fanden wir jeweils signifikant überdurchschnittlich viele Diabetiker mit einem HbA_{1c} -Anteil von $>11\%$, also schlechter Stoffwechseleinstellung unter den Patienten

mit Nephropathie (belegt durch ein erhöhtes Serum- β_2 -MG) oder proliferierender Retinopathie. Diese Zusammenhänge konnten auch nach Angleichung der untersuchten Kollektive bezüglich des Alters und der Diabetesdauer der Patienten verifiziert werden.

Inwieweit ein bereits bestehender Bluthochdruck das Fortschreiten der Nephropathie an unseren Patienten begünstigt hat, konnte nicht geklärt werden. Zwar hatten die von uns untersuchten Diabetiker mit Hypertonus ein signifikant höheres β_2 -MG im Serum als diejenigen mit normalem Blutdruck. Ob der Hypertonus nun Folge oder Mitursache der zunehmenden Glomerulosklerose war, kann daraus jedoch nicht beantwortet werden. Unter den Patienten mit während des Kontrollzeitraums gestiegenem β_2 -MG fand sich im Übrigen keine auffällige Häufung der Hypertoniker.

4) DIE VORGESTELLTEN METHODEN IN DER ROUTINEDIAGNOSTIK

Nach allen vorliegenden Ergebnissen ist somit die Bestimmung des Serum- β_2 -MG durchaus geeignet, die Früherkennung und die weitere Kontrolle der diabetischen Nephropathie mit zu ermöglichen. Die Wertigkeit der Methode zur Überwachung der GFR läßt sich unserer Ansicht nach zwischen der einfachen Serumkreatininbestimmung und einer (aufwendigen) Inulin- oder ^{51}Cr -EDTA-Clearance-Messung einordnen. Der Bestimmung der endogenen Kreatininclearance ist sie diesbezüglich in etwa ebenbürtig, letztere ist jedoch unter anderem auch durch eine erhebliche Unsicherheit seitens des Patienten belastet. Hier liegt ganz klar der Vorteil des β_2 -MG, zu dessen Bestimmung lediglich eine einzelne Blutentnahme am nüchternen Patienten notwendig ist. Nicht außer Acht lassen darf man jedoch auch hier die Abhängigkeit aller Serumproteinspiegel von der Körperlage und vom allgemeinen Hydratationszustand des Patienten. Es empfiehlt sich daher, insbesondere für Verlaufsbeobach-

tungen, standardisierte Abnahmebedingungen einzuhalten, um eine optimale Aussagekraft der Ergebnisse zu erzielen. Ebenso ist ein sorgfältiger Ausschluß von Zusatzerkrankungen, welche ohnehin mit erhöhten β_2 -MG-Serumspiegeln einhergehen, unbedingt nötig. Eine Möglichkeit, die interindividuellen Schwankungen des Serumspiegels nicht mehr berücksichtigen zu müssen, bestünde in der einmaligen Durchführung einer Inulin- oder Radioisotopenclearancebestimmung zusätzlich zur Messung des Serum- β_2 -MG. Hieraus könnte dann ein (schmälerer) individueller Normbereich festgelegt werden, wodurch die Spezifität und Sensitivität der Methode weiter erhöht werden könnte.

Bezüglich der Brauchbarkeit der Methode in der klinischen Routine fallen natürlich der verhältnismäßig hohe technische und zeitliche Aufwand sowie die Verwendung radioaktiver Substanzen negativ ins Gewicht. Eine Automatisierung des RIAs für Serienbestimmungen wäre zwar wünschenswert, ist jedoch vollständig nur sehr schwer durchzuführen. Einen erheblichen Fortschritt in dieser Hinsicht stellen jedoch die erst kürzlich von verschiedenen Firmen auf den Markt gebrachten Enzymimmunoassay (=ELISA)-Kits zur Bestimmung von β_2 -MG dar. Sie benötigen zur Auswertung lediglich ein Filterphotometer und vermeiden die Verwendung von Radioaktivität. Die Präzision der Methoden ist mit der des hier verwendeten RIAs vergleichbar. Ein vollkommener Verzicht auf die Verwendung der immer etwas aufwendigeren immunologischen Methoden ist jedoch im Moment offensichtlich nicht möglich.

Inwieweit sich das erst 1975 von Ekström (15) beschriebene α_1 -Mikroglobulin besser als β_2 -MG zur Kontrolle der Nierenfunktion eignet, steht noch nicht sicher fest. Dieses Spurenprotein, dessen Herkunft noch nicht genau geklärt ist, wird auf dem gleichen Weg wie β_2 -MG eliminiert; der Nachweis erfolgt ebenfalls immunologisch. Aus ersten Mitteilungen ist zu entnehmen, daß es noch empfindlicher als β_2 -MG auf Schwankungen der GFR reagieren soll. Hier müssen jedoch wohl weitere Untersuchungen abgewartet werden.

Ganz klar unterstreichen die hier gewonnenen Ergebnisse auch die große Bedeutung, die der Erfassung einer Mikroproteinurie zur Früherkennung der diabetischen Glomerulosklerose zukommt. Zwar ist die Mikroproteinurie, wie bereits in der Einleitung erwähnt, mehr als andere Parameter von temporären Faktoren abhängig. Da sie jedoch in vielen Fällen nach wie vor das erste klinische Zeichen der Mikroangiopathie an der Niere ist, erachten wir ihre Überwachung für unerlässlich. Unserer Meinung nach empfiehlt es sich daher zur Ergänzung von Methoden wie der Bestimmung des Serum- β_2 -MG, die in der klinischen Routine üblichen Eiweißbestimmungsverfahren durch solche mit höherer Empfindlichkeit zum sicheren Nachweis bzw. Ausschluß auch grenzwertig pathologischer Eiweißausscheidung zu ersetzen. Da die Proteinurie im Anfangsstadium nur intermittierend besteht, (39, 60, 62), ist es auch von Bedeutung, wiederholt Proben von 24 h- bzw. Morgenurin zu untersuchen. Der zur Durchführung der Bestimmungen notwendige technische Aufwand ist verhältnismäßig gering, der Umgang mit Radioaktivität wie etwa bei dem sich ebenfalls anbietenden Albumin-RIA entfällt bei der von uns eingesetzten Methode.

Ein gewisser Nachteil besteht in der Empfindlichkeit der Proteinbestimmung nach Lowry für verschiedene im Urin unter Umständen vorkommende Substanzen, insbesondere Kohlehydrate (8). Dies machte eine Vorbehandlung der Proben zur Elimination der Störgrößen notwendig, was einen zusätzlichen Arbeitsaufwand sowie eine etwas größere Streuung der Resultate zur Folge hatte. Eine Lösung hierfür wäre unter Umständen durch die 1976 von Bradford beschriebene Methode zur Proteinbestimmung möglich (8). Sie beruht ebenfalls auf einem kolorimetrischen Verfahren und ist etwa 4 x empfindlicher als die Methode nach Lowry. Eine Interferenz durch Glukose besteht nicht. Ob bzw. inwieweit hiermit Urine in jedem Fall ohne weitere Vorbehandlung und gegebenenfalls sogar automatisiert analysiert werden können, müßte jedoch erst noch geklärt werden.

5) UNTERSCHIEDE IM VERLAUF VON TYP I- UND TYP II-DIABETES

Die Unterteilung der Patienten in insulinpflichtige und nicht insulinpflichtige Diabetiker hat erhebliche Unterschiede zwischen beiden Gruppen erkennen lassen. Bei den IDD-Patienten findet sich wesentlich häufiger eine Nephropathie, die im Mittel auch signifikant stärker ausgeprägt ist. Dies ist an den Serumparametern der Nierenfunktion ablesbar, noch deutlicher aber ist die Tendenz bei der Proteinurie, die eine zum nephrotischen Syndrom führende Größenordnung nur in der IDD-Gruppe erreichte. Ebenso finden sich - als Hinweis auf einen hier vorliegenden "aggressiveren" Diabetes - in der IDD-Gruppe mehr Fälle mit Retinopathie und hierunter wiederum signifikant mehr Diabetiker im Stadium III/IV (proliferierende Retinopathie).

Daß das höhere Durchschnittsalter der NIDD-Patienten hierfür die Ursache ist, ist unwahrscheinlich. Bei dem bei älteren Patienten auch in unserem Kollektiv nachgewiesenen größeren Hypertonusrisiko würde man eher das Gegenteil erwarten. Die Abhängigkeit der Nierenfunktion von der Diabetesdauer ist, wie beschrieben, ebenfalls nur gering und uneinheitlich. Darüber hinaus zeigen die bezüglich Alter und Diabetesdauer angeglichenen Kollektive ohnehin fast dieselben Differenzen wie im Gesamtkollektiv. Dokumentiert durch ein mittleres HbA_1 von 11,7% liegt bei den insulinpflichtigen Diabetikern eine schlechtere Stoffwechseleinstellung vor als bei der NIDD-Gruppe (HbA_1 : 10,8%). Daß dieser Unterschied, welcher in den angeglichenen Kollektiven im Übrigen noch geringer ist (11,6% gegenüber 11,2%; keine Signifikanz) die Hauptursache für die verschiedene Ausprägung der Mikroangiopathie ist, erscheint uns ebenfalls unwahrscheinlich. Vielmehr lassen unsere Ergebnisse vermuten, daß es prinzipielle Unterschiede im Verlauf und in der Entwicklung der Mikroangiopathie zwischen beiden Diabetestypen gibt. Ein Hinweis hierauf wäre unter Umständen auch die Tatsache, daß unter den Patienten mit Proteinurie

ohne β_2 -MG-Erhöhung signifikant mehr insulinpflichtige Diabetiker sind als innerhalb der Gruppe ohne pathologische Proteinurie jedoch mit erhöhtem β_2 -MG im Serum (Tab. 2).

Takazukura et al. (57) äußerten hierzu, daß dem Diabetestyp, was die Folgeerkrankungen angeht, wahrscheinlich mehr Bedeutung zugemessen werden muß als beispielsweise der Diabetes-einstellung. Ansonsten ist uns jedoch aufgefallen, daß sich in der Literatur keine prospektiven Studien über den normalen Verlauf eines Typ II-Diabetes im Hinblick auf die diabetische Mikroangiopathie finden. Auch die in dieser Arbeit zitierten Veröffentlichungen beziehen sich fast ausschließlich auf Untersuchungen an Typ I-Diabetikern. Gerade angesichts der Tatsache, daß die nicht insulinpflichtigen Diabetiker ja an sich die Mehrheit bilden und inzwischen die Folgeerkrankungen auch relativ häufig erleben, eröffnet sich hier noch ein weiterer Raum für künftige Forschungen.

V) ZUSAMMENFASSUNG

Für die Prognose eines Diabetes mellitus spielt das Auftreten bzw. die Progredienz der diabetischen Nephropathie eine entscheidende Rolle; in der Dauerbetreuung des diabetischen Patienten ist daher auf die frühe Erkennung einer sich entwickelnden Nephropathie besonderes Augenmerk zu richten. An 120 Diabetikern vom Typ I und Typ II bestimmten wir die Spiegel von β_2 -Mikroglobulin (β_2 -MG) im Serum und Urin sowie das Ausmaß der Mikroproteinurie. β_2 -MG wurde dabei radioimmunologisch nachgewiesen, zur Eiweißbestimmung im Urin verwendeten wir eine Methode mit einer Empfindlichkeit von unter 10 mg/l. Die Ergebnisse wurden miteinander, mit dem Serumkreatinin, dem Grad der diabetischen Retinopathie sowie weiteren krankheitsspezifischen Parametern verglichen. An 70 Kontrollpersonen wurde der Normalbereich für β_2 -MG im Serum sowie dessen Korrelation zur endogenen Kreatininclearance untersucht.

Bei den Kontrollpersonen ergab sich eine enge ($r = -0,94$) Korrelation zwischen endogener Kreatininclearance und Serum- β_2 -MG. Der Normalbereich wurde auf $\leq 2,4$ mg/l festgelegt. Bei allen Diabetikern mit erhöhtem Serumkreatinin fanden wir pathologische β_2 -MG-Serumspiegel. Darüberhinaus bestanden bei einem Viertel der untersuchten Patienten β_2 -MG-Werte von über 2,4 mg/l bei noch normalem Serumkreatinin. Im Vergleich mit der Proteinurie (Normalbereich ≤ 40 mg/die) fanden wir als mögliches Zeichen einer beginnenden diabetischen Glomerulosklerose bei 17 bzw. 13 Patienten lediglich eine pathologische Proteinurie bzw. ein erhöhtes Serum- β_2 -MG, während der andere Parameter noch im Normbereich lag. Die Bestimmung des β_2 -MG im Urin eignet sich nicht zum frühen Nachweis eines diabetischen Nierenschadens. Eine Verlaufsbeobachtung des Serum- β_2 -MG zeigte 6 Patienten mit in den pathologischen Bereich ansteigenden β_2 -MG-Werten. Alle 6 Patienten hatten bis zuletzt ein normales

Serumkreatinin, bei 5 von Ihnen bestand oder entwickelte sich eine Proteinurie.

Die mittleren β_2 -MG-Spiegel steigen signifikant im Vergleich mit den einzelnen Retinopathiestadien an. Ein entsprechendes Ergebnis konnte beim Serumkreatinin nur zwischen Patienten ohne Retinopathie und solchen mit proliferierender Retinopathie nachgewiesen werden. Auch das Ausmaß der Proteinurie nimmt zwischen Stadium I und II nicht wesentlich zu. Beim Vergleich der Mikroangiopathieparameter mit dem mittleren HbA_{1c} der letzten zwei Jahre fanden wir jeweils signifikant höhere Anteile an Patienten mit schlecht eingestelltem Diabetes ($\text{HbA}_{1c} > 11\%$) in den Gruppen mit β_2 -MG $> 2,4$ mg/l, Proteinurie > 150 mg/die bzw. proliferierender Retinopathie.

Weiter konnten wir zwischen den insulinabhängigen und nicht insulinabhängigen Diabetikern signifikante Unterschiede in der Ausprägung der diabetischen Folgeerkrankungen erkennen, welche offensichtlich nicht auf die unterschiedliche Altersstruktur der beiden Gruppen zurückzuführen sind. So bestand unter anderem bei 62% der IDDD - Diabetiker eine Proteinurie > 40 mg/die, während es bei den NIDDD - Diabetikern nur 28% waren. Bei letzteren lagen 2/3 der überhöhten Werte zwischen 40 und 150 mg/die und entgingen damit den in der klinischen Routine üblichen Nachweismethoden.

Zusammenfassend zeigte sich somit, daß die Bestimmung des Serum- β_2 -MG eine dem Serumkreatinin weit überlegene, für den Patienten problemlose und trotzdem mit vertretbarem Aufwand durchführbare Methode zur Kontrolle der GFR und damit zur Früherkennung der diabetischen Mikroangiopathie an der Niere ist. Hierzu empfiehlt sich ergänzend in jedem Fall eine Erfassung einer eventuellen Mikroproteinurie durch geeignete, ausreichend empfindliche Verfahren.

VI) LITERATURVERZEICHNIS

1. Allen DW, Schroeder WA, Balog J (1958): Observations on the chromatografic heterogenity of normal adult and fetal hemoglobin. A study of the effects of cristallization and chromatografy on the heterogenity and isoleucine content. J Am Chem Soc 80:1628 - 1634
2. Amlot PL, Adinolfi M (1979): Serum-beta₂-microglobulin and its prognostic value in lymphomas. Eur J Cancer 15: 791 - 796
3. Aronoff SL, Schnider S, Smeltzer J, Mackay W, Tschou P, Rushforth N, Miller M, Bennet PH (1981): Urinary excretion and renal clearance of specific plasma proteins in diabetes of short and long duration. Diabetes 30:656 - 663
4. Bailey RR, Tisch GW, Pearson S (1979): Serum-beta₂-microglobulinin the asessment of renal function. Z Med J 17: 87 - 94
5. Ballentyne AJ, Michaelson IC (1970): Textbooks of the fundus of the eye. 2nd edition. Williams and Wilkins, Baltimore
6. Berggard I, Bearn AG (1968): Isolation and properties of a low molekular weight beta₂-globulinoccurring in human biological fluids. J Biol Chem 243:4095
7. Bodenstein H, Südkamp N (1983): Beta₂-Mikroglobulin bei akuten und chronischen Leukämien. Tumor Diagn & Ther 4: 80 - 85
8. Bradford M (1976): A rapid and sensitive method for the quantitation of microgramm quantities of protein utilizing the principle of protein-dye-binding. Anal Biochem 72: 248 - 254
9. Braven V, Goddard J, Brill AB, Touya JJ (1979): Beta₂-Microglobulin as a renal diagnostic agent. Urology 13: 624 - 627
10. Bunn HF, Haney DH, Kamin S, Gabbay KH, Galop DM (1976):

- The biosynthesis of human hemoglobin A_{1c}. J Clin Invest 57 : 1652 - 1659
11. Chantler C, Garnett ES, Parsons V, Veall N (1969): Glomerular filtration rate measurement in man by single injection measurement using ⁵¹Cr-EDTA. Clin Sci 37 : 169
 12. Deckert T, Poulsen JE, Larsen M (1978): Prognosis of diabetics with diabetes onset before the age of thirty-one. Diabetologica 14 : 363 - 370
 13. Deckert T, Poulsen JE (1981): Diabetic nephropathy: fault or destiny? Diabetologica 21 : 178 - 183
 14. Descos L, André C, Beorchia S, Vincent C, Revillard JP (1979): Serum levels of beta₂-microglobulin, a new marker of activity in Crohn's disease. N Engl J Med 301 : 440 - 441
 15. Ekström B, Peterson PA, Berggard I (1975): A urinary and plasma alpha₁-globulin of low molecular weight: isolation and some properties. Biochem Biophys Res Commun 65 : 1472 - 1533
 16. Entmacher PS, Root HF, Marks HH (1964): Longevity of diabetic patients in recent years. Diabetes 13 : 373 - 377
 17. Evrin PE, Wibell L (1972): The serum levels and urinary excretion of beta₂-microglobulin in apparently healthy subjects. Scan J Clin Lab Invest 29 : 69 - 74
 18. Evrin PE, Wibell L (1973): Serum-beta₂-microglobulin in various disorders. Clin Chim Acta 43 : 183 - 186
 19. Friedman EA (1980): Diabetic renal-retinal syndrome. Arch Int Med 140 : 1149 - 1150
 20. Gibbs GE, Wilson RB, Gifford H (1966): Glomerulosclerosis in the long-term alloxan-treated monkey. Diabetes 15 : 258 - 261
 21. Gonen BA, Rubenstein H, Rochman H, Tanega SP, Horwitz DL (1977): Hemoglobin A₁: an indicator of the metabolic control of diabetic patients. Lancet 2 : 734
 22. Hall PW, Vasiljewic M (1973): Beta₂-microglobulin excretion as an index of renal tubular disorders with special reference to endemic Balcan nephropathy. J Lab Clin Med 81 : 897
 23. Hierholzer KM, Butz R, Baethke R (1972): Evaluation of measurement of reduced glomerular filtration rate in the

- severely diseased kidney. Uremia (Hg: Kluthe R, Berlyne B, Benton B). Thieme, Stuttgart p.98
24. Ireland JT, Viberti GC, Watkins PJ (1982): The kidney and the urinary tract. Complication of diabetes (Hg: Keen H, Jarret J). Edward Arnold, London p.137 - 178
 25. Irmscher K (1972): Die diabetische Nephropathie. Diabetes im Bild (Hg: Farbwerke Hoechst AG). Frankfurt p.75 - 102
 26. Jacobsen FK, Christensen CK, Mogensen CE, Andreasen F, Heilskow NSC (1979): Pronounced increase in serum creatinine concentration after eating cooked meat. Br Med J I: 1049 - 1050
 27. Jaeger E (1855): Beiträge zur Pathologie des Auges. Wien 1855
 28. Karlsson FA, Groth T, Sege K, Wibell L (1980): Turnover in humans of β_2 -microglobulin, the constant chain of HLA-antigens. Eur J Clin Invest 10: 293 - 300
 29. Kimmelstiel P, Wilson C (1936): Inter-capillary lesions in the glomeruli of the kidney. Amer J Path 12: 83
 30. Kult J, Lämmerlein C, Roeckel A, Heideland A (1974): β_2 -Mikroglobulin im Serum - ein Parameter des Glomerulumsfiltrats. Dtsch Med Wochenschr 99: 1686 - 1688
 31. Kussmann MJ, Goldstein HH, Gleason RE (1976): The clinical course of diabetic nephropathy. JAMA 236: 1861 - 1863
 32. Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ (1951): Protein measurement with the folin phenol reagent. J Biol Chem 193: 265 - 275
 33. Manincourt D, Braumann H, Orloff S (1978): Plasma and urinary levels of β_2 -microglobulin in rheumatoid arthritis. Ann Rheum Dis 37: 328 - 332
 34. Mauer SM, Steffes M, Sutherland MW (1975): Studies on the rate of progression of glomerular lesions in diabetic rats treated with pancreatic island transplantation. Diabetes 24: 280
 35. Mauer SM, Steffes MW, Michael AF, Brown DM (1976): Studies of diabetic nephropathy in animals and man. J Am Diab Ass 25: 850 - 857
 36. Mauer SM, Steffes MW, Azar S, Sandberg SK, Brown DM (1978):

- The effect of Goldblatt hypertension on the development of the glomerular lesions of the diabetes mellitus in the rat. *Diabetes* 27 : 738
37. Mogensen CE (1971): Glomerular filtration rate and renal plasma flow in short-term and long-term juvenile diabetes mellitus. *Scand J Clin Lab Invest* 28 : 91 - 100
 38. Mogensen CE (1971): Urinary albumin excretion in early and long-term juvenile diabetes. *Scand J Clin Lab Invest* 28 : 183 - 193
 39. Mogensen CE (1976): Renal function changes in diabetes. *Diabetes* 25 : 872 - 879
 40. Mogensen CE, Osterby R, Gundersen HGG (1979): Early functional and morphologic vascular consequences of the diabetic state. *Diabetologica* 17 : 71 - 78
 41. Mogensen CE (1980): Antihypertensive treatment inhibiting the progression of diabetic nephropathy. *Acta Endocrinol (Suppl. 238)* 94 : 103 - 111
 42. Osterby R (1972): The number of glomerular cells and substructures in early juvenile diabetes. *Acta Pathol Microbiol Scand (Seet A)* 80 : 785 - 800
 43. Paz-Guevara AI, Hsu TH, White P (1975): Juvenile diabetes mellitus after 40 years. *Diabetes* 24 : 559 - 563
 44. Peterson PA, Cunningham BA (1973): The complete amino acid sequence of β_2 -microglobulin. *Biochemistry* 12 : 4811
 45. Peterson PA, Rask L, Lindblom JB (1974): Highly purified papain solubilized HLA-antigens contain β_2 -microglobulin. *Proc Nat Acad Sci USA* 71 : 35 - 39
 46. Pharmacia Freiburg (Hg.) (1980): β_2 -Mikroglobulin-RIA-Kit Arbeitsanleitung. Freiburg 1980
 47. Rashid SA, Cooper EH, Axon ATR, Eaves G (1980): Serum β_2 -microglobulin in malignant and benign diseases of the stomach and pancreas. *Biomedicine* 33 : 112 - 116
 48. Rick W (1977): *Klinische Chemie und Mikroskopie*. Springer, Berlin, Heidelberg, New York p.197 - 199
 49. Roels H, Bernard A, Buchet P, Lauwerys R, Masson P (1978): Urinary excretion of β_2 -microglobulin and other proteins in workers exposed to cadmium, lead or mercury.

- Path et Biol 26 : 329 - 330
50. Romen W (1980): Zur Morphologie und Pathogenese der diabetischen Glomerulosklerose. Klin Wochenschr 58 : 1013 - 1022
 51. Schadewaldt H (1972): Die Geschichte des Diabetes. Diabetes im Bild (Hg. Farbwerke Hoechst AG. Frankfurt p.9 - 44
 52. Schardijn G, Statius von Eps LW, Swaak AJG (1979): Urinary beta₂-microglobulin in upper and lower urinary tract infections. The Lancet I : 805 - 807
 53. Schirrmeister J, Willmann H, Kiefer H, Hallauer W (1964): Für und wider die Brauchbarkeit der endogenen Kreatinin-clearance in der funktionellen Nierendiagnostik. Dtsch Med Wochenschr 89 : 1640 - 1644
 54. Schnek AG, Schroeder WA (1961): The relation between the minor components of whole normal human adult hemoglobin including a comparison of hemoglobin as isolated by chromatography and starch block electrophoresis. J Amer Chem Soc 83 : 1472 - 1478
 55. Shigematsu I, Minowa M, Yoshida T, Miyamoto K (1979): Recent results of health examinations in the general population in cadmium polluted and control areas in Japan. Environ Health Perspect 28 : 205 - 210
 56. Simpson LO (1982): Microalbuminuria to predict nephropathy in diabetes. Lancet II : 330 - 331
 57. Takazukura E, Nakamoto Y, Hayakawa H, Kawai K, Muramoto S, Yoshida K, Shimizu M, Shinoda A, Takeuchi J (1975): Onset and progression of diabetic glomerulosclerosis. Diabetes 24 : 1 - 9
 58. Ulmer HV (1977): Ernährung. Physiologie des Menschen (Hg. Schmidt RF, Thews G). Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York p.568 - 582
 59. Uthmann U, Geisen HP (1981): Beta₂-Mikroglobulin. Dtsch Med Wochenschr 105 : 782 - 786
 60. Viberti GC, Pickup JC, Jarrett RJ, Keen H (1979): Effect of control of blood glucose on urinary excretion of albumin and beta₂-microglobulin in insulin-dependant diabetes.

N Engl J Med 300 : 638 - 641

61. Viberti GC, Keen H, Mackintosh D (1981): Beta₂-microglobulinaemia: a sensitive index of diminishing renal function in diabetics. Br Med J 282 : 95 - 98
62. Viberti GC, Pickup JC, Bilous RW, Keen H, Mackintosh D (1981): Correction of exercise-induced microalbuminuria in insulin-dependant diabetics after three weeks of subcutaneous insulin infusion. Diabetes 30 : 818 - 823
63. Viberti GC, Jarrett RJ, Mahmud U, Hill RD, Argyropoulos A, Keen H (1980): Microalbuminuria as a predictor of clinical nephropathy in insulin-dependant diabetes mellitus. Lancet II : 1430 - 1432
64. Viberti GC, Bilous RW, Mackintosh D, Bending JJ, Keen H (1983): Long term correction of hyperglycaemia and progression of renal failure in insulin-dependant diabetes. Br Med J 286 : 598 - 602
65. Wibell L, Evrin PE, Berggard I (1973): Serum-beta₂-microglobulin in renal disease. Nephron 10 : 320 - 321

Ich danke Herrn Prof. Dr. N. Zöllner und Herrn Prof. Dr. F.-D. Goebel für die freundliche Genehmigung zu dieser Arbeit und die Überlassung des Themas sowie für die Möglichkeit, Krankengeschichten des umfangreichen Krankenguts der Medizinischen Poliklinik der Universität München auszuwerten.

Daneben möchte ich an dieser Stelle insbesondere Frau Dr. I. Hilmar, Herrn Dr. H.S. Füessl und Herrn Dr. K. Stocker für ihre Unterstützung bei der praktischen Durchführung dieser Arbeit danken.

Ebenso zu Dank verpflichtet bin ich darüberhinaus Frau D. Kaiser und Frau B. Röttger für ihre freundliche Mithilfe.

LEBENS LAUF

Ich, Thomas Johannes Schmeidl, wurde am 19. Oktober 1957 als Sohn der Josefine Schmeidl, geb. Sirch, und des Dr. Johann Schmeidl in Bernau am Chiemsee geboren.

Im September 1964 trat ich in die Volksschule Bernau ein, von wo ich 1967 auf das Ludwig Thoma-Gymnasium in Prien überwechselte. Dort erlangte ich am 27. Juni 1976 die allgemeine Hochschulreife.

Im Wintersemester 1976 / 77 begann ich das Studium der Humanmedizin an der Universität München. Während des praktischen Jahres arbeitete ich an der Hauner'schen Kinderklinik und der I. Medizinischen Klinik Großhadern der Universität München sowie an der chirurgischen Abteilung des städtischen Krankenhauses Rosenheim. Im Oktober und November 1983 absolvierte ich den dritten Teil der ärztlichen Prüfung.

Nach meiner Anerkennung als Kriegsdienstverweigerer am 28. November 1983 bin ich seit September 1984 als Arzt im Zivildienst an der II. Medizinischen Klinik des Klinikums rechts der Isar tätig.

